



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA**

**TEMA: “IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE
INFECCIONES RESPIRATORIAS PRESENTES EN MATERIAL
PARTICULADO PM10 EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE
QUITO”**

AUTOR: BENAVIDES CORREA DAVID LUIS

DIRECTORA: M.Sc. KOCH KAISER ALMA

SANGOLQUÍ

2017



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE INFECCIONES RESPIRATORIAS PRESENTES EN MATERIAL PARTICULADO PM10 EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO**” realizado por **DAVID LUIS BENAVIDES CORREA**, ha sido revisado en su totalidad y analizado por el software anti-plagio, el mismo cumple con los requisitos teórico, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas-ESPE, por lo tanto me permito acreditarlo y autorizar al señor **DAVID LUIS BENAVIDES CORREA** para que lo sustente públicamente.

Sangolquí ,06 de Enero 2017



M.Sc. Alma Koch
DIRECTORA



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Yo, **DAVID LUIS BENAVIDES CORREA**, con Documento Nacional de Identificación 171950342-5, declaro que este trabajo de titulación “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE INFECCIONES RESPIRATORIAS PRESENTES EN MATERIAL PARTICULADO PM10 EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO**”, ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existente, así como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográfica.

Consecuentemente declaro que este trabajo es de mi autoría en virtud de ello me declaro responsable del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

Sangolquí ,06 de Enero 2017

DAVID LUIS BENAVIDES CORREA

DNI 1719503425



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORIZACIÓN

Yo, **DAVID LUIS BENAVIDES CORREA**, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar en la biblioteca Virtual de la institución el presente trabajo de titulación, “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE INFECCIONES RESPIRATORIAS PRESENTES EN MATERIAL PARTICULADO PM10 EN EL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO**” cuyo contenido, ideas y criterios son de mi autoría y responsabilidad. .

Sangolquí ,06 de Enero 2017

DAVID LUIS BENAVIDES CORREA

DNI 1719503425

DEDICATORIA

La realización de mi proyecto de Titulación es dedicada a los motores de mi vida, los mismos que han motivado a la culminación de mi proyecto, mis padres German Benavides y Julia Correa, que gracias a su preocupación, confianza y “hostigamiento”, me fue posible culminar mi tesis.

DAVID LUIS BENAVIDES CORREA

AGRADECIMIENTO

Una vez más agradeciendo a mis padres ya que sin su apoyo no hubiese sido posible culminar mis estudios.

A mi hermana Náthaly que me conoce más que a nadie y que junto a mi sobrino Joaquín han sido mis cómplices desde el primer día.

A mis apoyos emocionales Marco V., Ricardo C., Jonathan R., Pamela F. y Carla G. que con sus consejos y ocurrencias han sabido cómo mantenerme cuerdo.

A mi grupo universitario “Los Zuris” con los que hemos pasado un sinnúmero de pruebas, y a pesar de no estar juntos todo el tiempo, hemos sabido mantener la amistad hasta el final.

A mi Directora de Tesis Alma Koch, que más que docente, es Persona; mujer admirable, llena de valores y virtudes. Gracias por toda la confianza y tiempo depositado en mí, estoy seguro de que no será en vano.

A Candelaria que con su nariz húmeda ha sido mi compañera fiel en los más duros momentos.

A la Secretaría de Ambiente del DMQ por la confianza depositada para llevar a cabo la investigación en sus instalaciones.

Finalmente quiero agradecer de sobremanera a la Carrera de Ingeniería en Biotecnología por ayudarme a entender que el mundo está lleno de personas egoístas y maliciosas que sólo buscan su satisfacción personal, satisfacción que está sutilmente disfrazada de buenas acciones; una vez más gracias por ayudarme a no ser parte de ello.

DAVID LUIS BENAVIDES CORREA

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CONTENIDO	PÁGINA
Carátula.....	i
Legalización de firmas.....	ii
Certificación.....	iii
Declaración de responsabilidad.....	iv
Autorización.....	v
Dedicatoria.....	vi
Agradecimiento.....	vii
Índice de contenidos	viii
Índice de figuras.....	x
Índice de tablas.....	xii
Índice de anexos.....	xiii
Listado de abreviaturas.....	xv
Resumen.....	xvi
Abstract.....	xvii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Formulación del problema.....	1
1.2 Justificación del problema.....	1
1.3 Objetivos.....	2
1.3.1 Objetivo general.....	2
1.3.2 Objetivos específicos.....	2
1.4 Marco referencial.....	3
1.4.1 Descripción de la ciudad de Quito.....	3
1.4.1.1 Meteorología de la ciudad de Quito.....	3
1.4.2 Contaminación en aire ambiente.....	4
1.4.2.1 Contaminantes comunes.....	5
1.4.2.1.1 Material Particulado (PM).....	5
1.4.2.1.2 Óxidos de Nitrógeno (NOx).....	5

1.4.2.1.3 Dióxido de Azufre (SO ₂).....	6
1.4.2.1.4 Monóxido de Carbono (CO).....	6
1.4.2.1.5 Oxidantes Fotoquímicos.....	6
1.4.3 Material Particulado PM ₁₀	7
1.4.3.1 Material Particulado en DMQ.....	7
1.4.4 Infecciones Respiratorias.....	8
1.4.4.1 Principales bacterias causantes de Infecciones respiratorias.....	9
1.5 Hipótesis.....	10
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
2.1 Participantes.....	11
2.2 Zona de estudio.....	11
2.3 Período de Investigación.....	11
2.4 Selección de los puntos de muestreo en la localidad.....	11
2.5 Recolección del Material Particulado PM ₁₀	13
2.6 Captación y purificación de bacterias.....	13
2.7 Identificación de Bacterias.....	16
CAPÍTULO 3: RESULTADOS.....	19
3.1 Cuantificación de Material Particulado PM ₁₀	19
3.2 Cultivos obtenidos, clasificación.....	23
3.3 Pruebas Bioquímicas.....	27
3.4 Relación partícula-bacteria.....	29
CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN.....	34
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES.....	42
CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES.....	43
CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA.....	44
ANEXOS.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ubicación de los puntos de ambiental de la Red automática del DMQ.....	12
Figura 2: Esquematización de Muestreo (a), Obtención de Filtro muestreado Resuspensión de PM10 (c), y Siembra en medios de cultivo (d), de diferentes estaciones.....	14
Figura 3a: Forma de aislamiento bacteriano a partir de caja Petri inicial.....	15
Figura 3b: Ejemplo de cómo se obtiene el código de la cepa.....	16
Figura 4: Estructura organizacional para la identificación de las bacterias de interés a partir de una bacteria desconocida.....	17
Figura 5: Variación de la concentración de PM10 en datos de la Secretaría de Ambiente (azul) y de los datos de Muestreo (rojo) respecto a los tres meses muestreo (abril, mayo, junio) en las estaciones Belisario (A), Jipijapa Tababela (C), Los Chillos (D)	23
Figura 6: Colonias obtenidas en agar BCYE para <i>Legionella sp</i> después de dos semanas de incubación a 37°C a partir de la solución PM10 suspendido.....	24
Figura 7: Tinción Gram de la cepa “LC VI 2.2b”. Estafilococos Gram positivos (<i>S. aureus</i>) 100X.....	25
Figura 8: Tinción Gram de la cepa “BE V 4.7”. Bacilos Gram negativos (<i>E. coli</i>) 100X.....	25
Figura 9: Tinción Gram de la cepa “LC II 8.1”. Bacilos Gram negativos (<i>P. aeruginosa</i>) 100X.....	26

Figura 10: Tinción Gram de la cepa “TB III 4.1”. Bacilos Gram positivos (bacteria desconocida) 100X.....	26
Figura 11: Pruebas bioquímicas realizadas para la identificación de <i>A. baumannii</i> en software de identificación ABIS.	28
Figura 12: Resultados de las pruebas bioquímicas para identificación de <i>A. baumannii</i> en el software de identificación ABIS.	29
Figura 13: Comparación mensual entre el número de cepas, la concentración de PM10 muestreado y la concentración de PM10 de datos de la Secretaría de Ambiente durante los tres meses de muestreo en las diferentes estaciones: Jipijapa (A), Belisario (B), Tababela (C) y Los Chillos (D).....	31
Figura 14: Comparación promedial entre estaciones, las variables consideradas son: No. de cepas, concentración de PM10 muestreado y concentración de PM10 de la Secretaría.....	32
Figura 15: Gráfica comparativa de la velocidad del viento en las cuatro estaciones durante tres meses de muestreo. Los datos de la estación Belisario y Jipijapa son las mismas.....	35
Figura 16: Porcentaje de cepas identificadas durante toda la investigación, de un total de 357 cepas.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Identificación bacteriana mediante pruebas bioquímicas.....	18
Tabla 2: Fecha, hora de muestreo y datos meteorológicos de cada muestreo.....	20
Tabla 3: Peso y concentración de PM10 de filtros muestreados.....	22
Tabla 4: Cepas identificadas en cada muestreo.....	27
Tabla 5: Relación entre número de cepas y concentración de PM10.....	30
Tabla 6: Coeficientes de Correlación Spearman entre el número de Cepas asociadas PM10, parámetros meteorológicos y contaminantes.....	33

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Filtros muestreados a partir del segundo muestreo al sexto muestreo (izquierda a derecha). (A) Estación Jipijapa, (B) Estación Belisario, (C) Estación Tababela, (D) Estación Los Chillos.....	50
Anexo 2: Datos y variables tomados en consideración para el cálculo de la concentración de PM10 durante los meses de abril, mayo y junio de 2016, en todas las estaciones	51
Anexo 3: Resultado de pruebas bioquímicas todas las cepas con sus respectivos códigos de identificación, donde se muestran las cepas identificadas, las bacterias descartadas (resaltadas con rojo) y las bacterias desconocidas...55	55
Anexo 4a: Pruebas bioquímicas para identificación de la cepa control positivo de <i>S. aureus</i>	64
Anexo 4b: Pruebas bioquímicas para identificación de la cepa control positivo de <i>P. aeruginosa</i>	65
Anexo 4c: Pruebas bioquímicas para identificación de la cepa control positivo de <i>E. coli</i>	65
Anexo 4d: Pruebas bioquímicas para identificación de la cepa LC IV 7.1 correspondiente a <i>A. baumannii</i>	66
Anexo 4e: Pruebas bioquímicas para identificación de la cepa BE IV 7.4 correspondiente a <i>E. coli</i>	66
Anexo 4f: Pruebas bioquímicas para identificación de la cepa BE VI 1.1 correspondiente a <i>P. aeruginosa</i>	67
Anexo 4g: Pruebas bioquímicas para identificación de la cepa LC IV 8.1 la cual resultó desconocida.....	67

Anexo 5: Datos otorgados por la Secretaría de Ambiente de la concentración de PM10 normal (C) y en condiciones estándar (C*) durante los meses de enero a septiembre de 2016.....68

LISTADO DE ABREVIATURAS

µg: micro gramo.

ABIS: Advanced Bacterial Identification Software.

BCYE: Buffered Charcoal Yeast Extract.

BE: Belisario.

COV: Compuestos Orgánicos Volátiles.

DMQ: Distrito Metropolitano de Quito.

EMB: Eosin Methylene Blue.

INEC: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos.

IR: infecciones respiratorias.

JJ: Jipijapa.

LC: Los Chillos.

m.s.n.m.: Metros sobre el nivel del mar.

mbar: mili bar.

mL: mililitro.

NCBI: National Center for Biotechnology Information.

NECA: Norma de Calidad del Aire Ambiente.

NOx: Óxidos de nitrógeno.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PM: Material particulado.

PM10: Material Particulado de tamaño menor a 10 μm .

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism.

SO_x: Óxidos de azufre.

TB: Tababela.

TSA: Tryptic Soy Agar.

TULAS: Unificado de Legislación Secundaria.

UNESCO: Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura.

RESUMEN

En el Ecuador, los estudios sobre la incidencia del material particulado (PM) en la salud humana han sido poco tratados, así como también sobre los microorganismos presentes en el mismo, por esta razón, se ha motivado a realizar una identificación de bacterias causantes de Infecciones Respiratorias (IR) presentes en el PM10 en el Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), así como su relación con diferentes variables (contaminantes del aire y condiciones meteorológicas). Muestreadores de alto volumen semiautomáticos de PM10 y filtros de fibra de cuarzo fueron utilizados para recolectar PM10 en cuatro estaciones dentro del DMQ. Los filtros fueron suspendidos en agua peptonada y extendidos en la superficie de placas con medios de cultivo específicos para que crezcan las bacterias de interés. Jipijapa es la estación que más concentración de PM10 generó durante toda la investigación, con un promedio de $56,572 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. *S. aureus* fue la bacteria asociada a PM10 más común en todas las estaciones, correspondiente al 7.56% de todas las cepas, mientras que *E. coli* y *E. cloacae* fueron las que tuvieron menor crecimiento compartiendo un 0,56% del total. La velocidad del viento es una variable importante, ya que presenta una ligera correlación con bacterias asociadas a PM10 ($r=0,218$). Los procesos químicos y factores ambientales afectan a las propiedades y estructura del PM y, por ende, también a los microorganismos relacionados.

Palabras Clave:

- **CONTAMINANTES DEL AIRE**
- **CONDICIONES METEOROLÓGICAS.**

ABSTRACT

In Ecuador, studies on the incidence of Particulate Matter (PM) in human health have not been treated yet, as well as microorganisms. For this reason, we have been motivated to carry out an investigation that Identify airborne bacteria causing Respiratory Infections (RI) present in PM10 inside Metropolitan District of Quito (DMQ), and their relationships with variables such as air pollutants and meteorological conditions. Automatic high-volume PM10 samplers and quartz fiber filters were used to collect PM10 at four DMQ stations. Quartz filters were suspended in peptone water and spread plated onto the surface of specific culture media for airborne bacterial growing. Jipijapa station showed the highest PM10 concentration generated during the whole investigation, with an average of 56,572 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$. *S. aureus* was the most common PM10 associated bacterium found in all stations, corresponding to 7.56% of all strains, whereas *E. coli* and *E. cloacae* were the ones with the lowest growth, showing 0.56% of total bacteria. Wind speed is an important variable, since it presented a slight correlation with bacteria associated to PM10 ($r = 0.218$). Chemical processes and environmental factors affected properties and structure of PM, and also the microorganisms that are related to it.

Keywords:

- AIR POLLUTANTS
- WEATHER CONDITIONS.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1 Formulación del problema

En los últimos años, países latinoamericanos han estructurado planes de trabajo en base a modelos de industrialización, con la finalidad de mejorar el desarrollo productivo del país. Uno de los efectos colaterales de la expansión industrial, es el deterioro ambiental, el cual afecta directa e indirectamente, ya sea por la invasión de espacio físico o por la utilización de recursos naturales, generando inevitablemente en ambos casos, diferentes tipos de residuos, entre los cuales se encuentra incluido el Material Particulado (PM). Los efectos de dicha contaminación en muchos casos son inmediatos, y se manifiesta en la salud de las personas. En Ecuador, un país en vías de desarrollo, el proceso de transformación industrial avanza a pasos agigantados, pero a diferencia de los países ya industrializados, las necesidades básicas no están al alcance de las manos y es común encontrar personas con infecciones respiratorias (IR) causadas por bacterias patógenas relacionadas con el material particulado. Las infecciones respiratorias son causantes de muertes a nivel mundial, mayoritariamente de niños en edades de cero a cinco años, quienes son los que presentan mayor vulnerabilidad. El número de muertes por infecciones respiratorias agudas es de 3,5 millones cada año (Hernández, 2009).

1.2 Justificación del problema

En la Provincia de Pichincha, la entidad ambiental encargada de generar políticas que prioricen la prevención de malas prácticas ambientales es La Secretaría de Ambiente DMQ, mediante el muestreo y análisis físico químico de descargas líquidas, emisiones gaseosas a la atmósfera y calidad del aire (Secretaría de Ambiente DMQ, S/A).

En Latinoamérica son muy pocas las investigaciones que se han realizado en microbiología del aire, sin embargo en países del Oriente Medio y Asia, existen varias

publicaciones sobre los microorganismos presentes en el Material Particulado (Chen Cao et al., 2014; Mansour Alghamdi et al., 2014). Hasta ahora, en el país no se ha realizado análisis microbiológicos en material particulado, el cual por ser un conjunto de partículas muy pequeñas, llevan consigo agentes patógenos causantes de infecciones respiratorias. El Instituto Nacional de Estadísticas y Censos (INEC), 2009 las considera una de las principales causas de morbilidad entre enfermedades de notificación obligatoria; en Ecuador, la neumonía por organismo no especificado fue la primera causa de morbilidad con una tasa de 24,2 por cada 10.000 personas.

Por esta razón, se ha motivado a desarrollar un proyecto que nos ayude a identificar patógenos causantes de IR en el material particulado, con el propósito de disminuir a futuro uno de los problemas del sector Salud. En este caso, las afecciones respiratorias son causadas por altas concentraciones de material particulado en el aire. En el proceso de análisis microbiológico, las muestras de material particulado se obtienen de diferentes zonas del Distrito Metropolitano de Quito; y se espera encontrar una relación entre la geografía de Quito, el movimiento de la partícula en el aire y el tipo de bacteria identificada. De esta manera la salud ambiental, será observada desde un punto de vista químico, y ahora, biológico.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Identificar la comunidad bacteriana causante de Infecciones Respiratorias (IR) presentes en material particulado PM10 en el Distrito Metropolitano de Quito.

1.3.2 Objetivos específicos

- Determinar la cantidad de material particulado PM10 por metro cúbico de aire.

- Utilizar métodos adecuados para el cultivo, crecimiento y desarrollo de bacterias presentes en el material particulado PM10.
- Identificar géneros bacterianos causantes de infecciones respiratorias mediante diferentes técnicas de identificación bacteriana y técnicas microscópicas.
- Determinar la relación partícula-bacteria.

1.4 Marco referencial

1.4.1 Descripción de la ciudad de Quito

El Distrito Metropolitano de Quito (DMQ), denominado así por el Estado en el año de 1993 debido a su particular condición demográfica y política, dividió administrativa y físicamente el territorio en ocho administraciones zonales, que contienen a sesenta y cinco parroquias: treinta y dos urbanas y treinta y tres rurales (DMQ, 2011). Según el INEC, en el censo del año 2010, el DMQ albergaba a 1'639.853 habitantes en el área urbana y 2'239.191 habitantes en todo el Distrito.

La ciudad de Quito se encuentra ubicada sobre la hoya de Guayllabamba en las laderas occidentales del volcán Pichincha, a una altura entre 2.850 y 3.100 msnm en los lugares más elevados (UNESCO, S/A). Por lo general, el DMQ presenta un relieve heterogéneo, diverso con grandes potencialidades desde el punto de vista productivo. El Distrito comprende una significativa diversidad de recursos naturales, pisos climáticos y ecosistemas (DMQ, 2011).

1.4.1.1 Meteorología de la ciudad de Quito

Los regímenes agrícolas dentro del DMQ son influidos por la ubicación ecuatorial que permite que existan dos estaciones climáticas, una seca y una lluviosa, que comprende los meses de junio a septiembre y de octubre a mayo respectivamente, estableciendo formas de relación específicas entre la geografía y la población (DMQ, 2011).

Debido a la pluviosidad y a las variaciones de altura, el DMQ posee al menos quince tipos de clima, que van desde el clima nival (temperaturas menores a 4°C), hasta el clima tropical lluvioso de los bosques noroccidentales (temperaturas promedio de 22°C), mientras que en la zona más poblada ubicada a 2815 m.s.n.m. la temperatura promedio es de 14°C (Echanique, 2008, citado en DMQ, 2011).

1.4.2 Contaminación en aire ambiente

La contaminación del aire consiste en una mezcla de sólidos, gases, gotas líquidas o cualquier sustancia introducida en la atmósfera por el hombre que tienen un efecto perjudicial sobre los seres vivos y el ambiente (Airnow, 2015). Según la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales en México, 2014, las fuentes de contaminación son aquellas que dan origen a la misma, y se las puede clasificar en cuatro grupos: Puntuales, Móviles, De área y Naturales. Las fuentes puntuales: Son las fuentes de contaminación de estaciones fijas o estacionarias, como las plantas energéticas, industriales, petroleras, entre otras. El azufre (SO₂) y material particulado (PM) provenientes de la generación de energía eléctrica es una de las mayores preocupaciones a nivel mundial, ya que su proceso consiste en la combustión de enormes cantidades de combustibles fósiles. Las fuentes móviles: Incluyen a las diversas formas de transporte como autos, camiones, aviones, donde la principal fuente de contaminación móvil son los automóviles que producen enormes cantidades de monóxido de carbono (CO). Las fuentes de área: Consiste en una serie de fuentes pequeñas dispersas que por su escasa cantidad de emisión, no pueden ser incluidas en las fuentes puntuales, pero en conjunto pueden afectar el aire considerablemente. Ejemplos de este tipo de fuentes son las imprentas, estaciones de servicio, tintorerías, entre otras. Las fuentes naturales: El rol de la vida humana, vegetal y fenómenos naturales juegan un papel crucial en el problema de contaminación. En este tipo de emisiones atmosféricas encontramos a las emisiones biogénicas, que comprenden a los pastos, cultivos, animales, bacterias, entre otras, y a las emisiones de suelos que incluyen al óxido nitroso (N₂O) que es producido naturalmente en suelos en los procesos de desnitrificación.

El problema de la contaminación atmosférica es uno de los más relevantes, tanto por su magnitud como por la percepción de la comunidad. Al respecto, la probabilidad de que se presenten efectos en la salud humana es grande (Barrios, Peña, & Osses, 2004).

El aumento de los niveles de contaminación en aire ambiente en las ciudades se ha visto proyectado en un incremento en el registro de casos de enfermedades cardiovasculares y pulmonares. Según la Organización Mundial de la Salud, 2015, la mortandad ha aumentado a causa de la contaminación ambiental.

1.4.2.1 Contaminantes comunes

Según el Anexo IV, de la Reforma del Libro VI del Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria (TULAS), 2003, los principales contaminantes que inciden en la contaminación del aire son: partículas sedimentables, material particulado, óxidos de nitrógeno, dióxido de azufre, monóxido de carbono y oxidantes fotoquímicos.

1.4.2.1.1 Material Particulado (PM)

La mayoría de partículas de PM en la atmósfera son producto de reacciones químicas entre contaminantes, es decir, entre partículas pequeñas y gotitas líquidas que se mantienen en el aire. Al tener un tamaño menor a 10 micras y/o ser suficientemente oscuro, lo vuelve casi imperceptible al ojo humano, como es el caso del polvo, la suciedad, hollín o humo; mientras que el resto solo puede ser detectado mediante el uso de un microscopio electrónico (EPA, 2016).

1.4.2.1.2 Óxidos de Nitrógeno (NO_x)

Es uno de los grupos de gases altamente reactivos conocidos como óxidos de nitrógeno (NO_x). El ácido nítrico y el ácido nitroso se incluyen en el grupo de los NO_x, pero el más representativo es el dióxido de nitrógeno (NO₂), el cual es usado como indicador para el grupo más grande de los NO_x. El NO₂, se obtiene principalmente por la quema de combustibles fósiles en: automóviles, camiones, plantas eléctricas y equipos fuera de carretera (EPA, 2016).

1.4.2.1.3 Dióxido de Azufre (SO₂)

El SO_2 resulta de la combustión de cualquier material que contenga azufre. Es uno de los gases pertenecientes a un grupo denominado óxidos de azufre (SO_x), y que, junto con el NO_2 (perteneciente a los NO_x), son los de mayor importancia y preocupación para la salud humana y el medio ambiente. Otros óxidos de azufre presentes en el ambiente son el trióxido de azufre (SO_3) que se encuentra en concentraciones mucho menores que SO_2 , y el monóxido de azufre (SO) proveniente de procesos industriales como la extracción de metales, fuentes volcánicas, locomotoras y equipo en general que utilice combustibles azufrados (EPA, 2016).

1.4.2.1.4 Monóxido de Carbono (CO)

Los autos, camiones y demás maquinaria que quema combustibles fósiles son las principales fuentes de producción de CO. Al ser un gas inodoro e incoloro puede llegar a ser perjudicial para la salud cuando es inhalado en grandes cantidades, ya que al respirar una alta concentración de CO, la cantidad de oxígeno disminuye. El oxígeno es necesario para ser transportado por la sangre hacia los diferentes órganos vitales como son el corazón y el cerebro (EPA, 2016).

1.4.2.1.5 Oxidantes Fotoquímicos

El Ozono (O_3) cuando no se encuentra rodeando a la tierra es perjudicial para la calidad del aire, a este ozono se lo considera “ozono malo”, y es producido por reacciones entre NO_x y Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) en la presencia de luz solar. Las emisiones de industrias y centrales eléctricas, los gases de los vehículos de motor, los vapores de gasolina y solventes químicos son algunas de las principales fuentes de NO_x y COV (EPA, 2016).

1.4.3 Material Particulado PM10

El material particulado (MP) es un conjunto de partículas constituidas por material sólido o líquido que se encuentran flotando en la atmósfera, se origina desde fuentes naturales continentales hasta emisiones a nivel urbano generado por el hombre (*TULAS, 2003*). Su diámetro aerodinámico varía desde 0,001 micrómetros hasta los 100 micrómetros, y su composición química incluye elementos como aluminio, silicio, potasio, calcio, hierro, zinc, vanadio, plomo, entre otros (*UC, S/A*). Para fines regulatorios, el material particulado se designa comúnmente como PM2.5 o PM10 lo que representa el diámetro aerodinámico de la partícula, de 2,5 μm y 10 μm , respectivamente. Las partículas de mayor interés son las partículas fácilmente respirables, es decir con diámetros menores a 10 μm (*Díaz & Páez, 2006*); al ser fácilmente respirables pueden depositarse dentro de los pulmones, e incluso puede llegar al torrente sanguíneo (*EPA, 2016*).

1.4.3.1 Material particulado en DMQ

Quito es una ciudad que se encuentra próxima a volcanes en actividad eruptiva y explotación de minas. Debido a su irregularidad topográfica y al ubicarse a una altura aproximadamente de 2.800 m.s.n.m. la quema de combustibles fósiles con alta cantidad de azufre se ve limitada, obligando a los automotores a realizar mayores esfuerzos para vencer dichas irregularidades y como resultado provoca altas emisiones de azufre y material particulado. En 2005 se ubicaron 33 puntos de muestreo de material particulado dentro y fuera del límite urbano. Esta red cuantifica el polvo sedimentable seco y húmedo según el método Bergerhoff, acatándose a la legislación ecuatoriana (*Díaz & Páez, 2006*).

Actualmente la Secretaría de Ambiente es la entidad ambiental encargada de generar políticas para la prevención de malas prácticas ambientales mediante el muestreo y análisis fisicoquímico de descargas líquidas y emisiones gaseosas a la atmósfera, manteniendo las emisiones en niveles deseables (*Secretaría de Ambiente DMQ, S/A*). Bajo la Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire, publicada en junio de 2011, en el Anexo 4 del Libro VI del TULAS del Ministerio de Ambiente, las concentraciones de PM10 que definen los niveles de alerta, alarma y emergencia en la calidad del aire expresado en $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ son 150, 250 y 350 respectivamente.

1.4.4 Infecciones Respiratorias

En el Ecuador, al ser un país en vías de desarrollo, el proceso de transformación industrial avanza a pasos agigantados, pero a diferencia de los países ya industrializados, las necesidades básicas no están al alcance de las manos, y es común encontrar personas con infecciones respiratorias (IR) causadas por bacterias patógenas relacionadas con el material particulado. Las infecciones respiratorias son causantes de muertes a nivel mundial, mayoritariamente de niños en edades de cero a cinco años, quienes son los que presentan mayor vulnerabilidad. El número de muertes por infecciones respiratorias agudas es de 3,5 millones cada año (Hernández, 2009).

Según se localización, se encuentran las infecciones respiratorias altas y bajas; las altas, que son las que afectan al tracto respiratorio superior, y las bajas, al tracto respiratorio inferior. De acuerdo a la etiología se pueden hacer dos tipos de clasificaciones: a) infecciones bacterianas, virales, parasitarias y fúngicas; b) infecciones que son causadas por un agente en particular (Maseos & Mateos, S/A).

El número de muertes en el mundo por infecciones respiratorias agudas es de 3,5 millones cada año (Hernández, 2009). Según las Guías de Práctica Clínica Basadas en la Evidencia, 2011, una infección respiratoria aguda se define como el conjunto de infecciones del aparato respiratorio causadas por microorganismos, ya sean virales, bacterianos u otros, con un período inferior a 15 días, con la presencia de signos clínicos como: tos, rinorrea, obstrucción nasal, odinofagia, otalgia, disfonía, respiración ruidosa, dificultad respiratoria, entre otras.

Según Blanco, 2006, el material particulado no es el único responsable de las afecciones respiratorias, sino también microorganismos presentes en el mismo que viaja en corrientes de aire. Por lo tanto es necesario un estudio entre la relación bacteria-material particulado, y su probabilidad de generar afecciones respiratorias.

A nivel mundial, las Infecciones Respiratorias toman el tercer lugar de causas de enfermedad en pacientes de todas las edades, y no sólo a la población infantil, aunque esta sea la más vulnerable. Entre los factores responsables de IR se encuentra la genética de la persona, la edad, condiciones de vida, alimentación, entre otros, los cuales aportan al

desarrollo de la enfermedad. No es novedad que el ambiente toma un papel crucial en el desarrollo de las enfermedades respiratorias, pero no es claro si algunos contaminantes toman un rol en la patología de las enfermedades respiratorias (Hernández, 2009).

1.4.4.1. Principales bacterias causantes de infecciones respiratorias

Dentro de las bacterias causantes de IR, encontramos las siguientes:

- ***Acinetobacter baumannii***: En las últimas décadas, el patógeno nosocomial ha tomado relevancia al poder ser agente causal de infecciones como neumonía, bacteriemia, meningitis (Diomedi, 2005). *A. baumannii*. Puede colonizar la cavidad oral, faringe e intestino, siendo importantes reservorios epidemiológicos en brotes nosocomiales (Marcos, S/A).
- ***Corynebacterium spp***: Es el principal causante de difteria respiratoria, la cual es una enfermedad aguda que afecta al tracto respiratorio superior (mucosa nasal, amígdalas, laringe o faringe) por una exotoxina causante de las manifestaciones locales y de los efectos tóxicos sistémicos (sVEA, 2012).
- ***Enterobacter cloacae***: Es un patógeno oportunista que puede causar una variedad de condiciones, incluyendo infecciones en ojos y piel, neumonía e infecciones en el tracto urinario (Rogers, S/A). No es un patógeno primario de humanos, pero ha sido considerado ser una importante causa de infecciones nosocomiales (Keller, Pedroso, Ritchmann, & Silva, 1998).
- ***Escherichia coli***: La neumonía cavitada es poco frecuente, se produce por la necrosis del parénquima pulmonar secundaria tanto a la invasión bacteriana como a la respuesta inmunológica del huésped frente a las estructuras de la pared del microorganismo (Bastidas, Ibarra, & Giraldo, 2012).
- ***Klebsiella pneumoniae***: Es considerado un agente causal de neumonía nosocomial y no comunitaria (Guzmán, et al., Bacterias patógenas en infecciones del tracto respiratorio. Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, Estado Sucre, 2005).
- ***Legionella sp***: Hay diversas especies de *Legionella*, de las que la más importante es la *Legionella pneumophila* causante de la mayor parte de los casos de neumonía

en humanos. Sin embargo existen otras 30 especies de *Legionella* con potencial patógeno y dentro de ellas hay serogrupos (SADAR, 2009).

- ***Pseudomonas aeruginosa***: Afecta a los pacientes con bronquiectasias con peor calidad de vida, coloniza a los que tienen peor funcionalidad pulmonar y mayor número de tratamientos antimicrobianos. La colonización patogénica broncopulmonar y las exacerbaciones que se derivan de ella constituyen las causas más importantes del deterioro de la función pulmonar en los pacientes con bronquiectasias (Cantón, Fernández, Gómez, & Meseguer, 2011).
- ***Serratia marcescens***: Puede encontrarse en la flora intestinal del hombre y animales, en el ambiente y en reservorios pobres en nutrientes como el agua potable, cañerías y llaves. Su adquisición es mayoritariamente nosocomial, especialmente en unidades de cuidados intensivos, mediante secreciones respiratorias, heridas y orina (Dossi, et al., 2002).
- ***Staphylococcus aureus***: La causa de neumonías en adultos son muy poco frecuentes, excepto cuando van acompañadas de epidemias por virus Influenza, sin embargo, en niños las infecciones en el tracto respiratorio son mucho más frecuentes. En las poblaciones de pacientes hospitalizados, *S. aureus* y los bacilos Gram negativos aerobios son una causa común de neumonía (Somogyi, Alfaro, Herrera, & Herrera, 1998).

1.5 Hipótesis

- El Material particulado PM10 del DMQ contiene bacterias causantes de Infecciones Respiratorias en humanos.
- La cantidad de material particulado PM10 que contiene bacterias causantes de Infecciones Respiratorias supera los límites permisibles dispuestos por la Secretaría de Ambiente en el DMQ.

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Participantes

El proyecto de titulación fue realizado en el Laboratorio de Fisicoquímica de la Secretaría de Ambiente del Distrito Metropolitano de Quito, con la colaboración del laboratorio de Microbiología de la Universidad de las Fuerzas Armadas – ESPE.

La organización de la investigación, el trabajo experimental fueron realizados por el Señor David Luis Benavides Correa, por dirección de MSc. Alma Koch, Directora de Tesi,s e Ing. Pamela Freire, Asesora científica.

2.2. Zona de Estudio

El trabajo implica investigación de campo y de laboratorio, la investigación de campo se llevó a cabo en la provincia de Pichincha, en el Distrito Metropolitano de Quito en los sectores de Jipijapa, Belisario, Los Chillos y Tababela; mientras que la investigación de laboratorio se la realizó en ciudad de Quito se realizó en el Laboratorio de Físico-Química de la Secretaría de Ambiente del DMQ, ubicado en la Av. Rio Coca E6-85 e Isla Genovesa, cantón Quito, provincia de Pichincha, Ecuador.

2.3. Período de Investigación

La investigación se llevó a cabo en los meses de abril de 2016 hasta Octubre de 2016.

2.4. Selección de los puntos de muestreo en la localidad

La Secretaría de Ambiente del DMQ cuenta con cuatro muestreadores para material particulado (PM10) ubicados en estaciones automáticas de monitoreo en Belisario, Jipijapa, Los Chillos y Tababela (**Figura 1**), los cuales monitorean cada seis días durante 24 horas según la norma ecuatoriana (Díaz & Páez, 2006). El monitoreo de estos contaminantes se realizan desde junio de 2003.

Los puntos de muestreo fueron ubicados dentro y fuera del perímetro urbano debido a que la ciudad de Quito se encuentra próxima a volcanes en actividad eruptiva, explotación de minas y perímetro urbano con alta afluencia de vehículos.

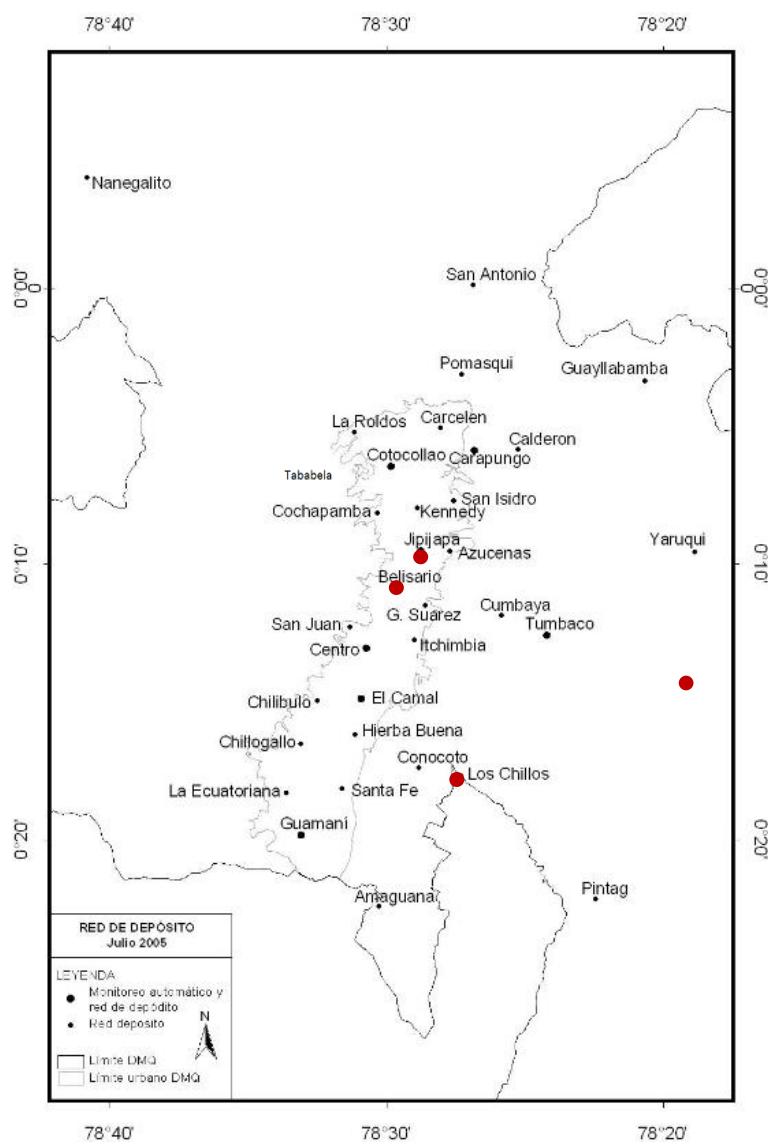


Figura 1: Ubicación de los puntos de monitoreo (puntos rojos) ambiental de la Red automática del DMQ.

Fuente: (Secretaría de Ambiente, 2015)

2.5. Recolección del Material Particulado PM10

El PM10 fue recolectado en filtros de fibra de cuarzo de 203 x 254 mm marca WhatmanTM que se esterilizaron por calor seco en una mufla a 200°C por 1 h y posteriormente fueron pesados. Una vez estériles, se almacenaron en fundas herméticas hasta el momento de su muestreo. El muestreo se llevó a cabo en un muestreador semi automático de PM10 marca “TISCH TE-600 Series” a un flujo de 1.019 a 1.699 m³.h⁻¹ durante una hora. Pasada la hora de muestreo, el filtro se volvió a guardar en una funda limpia hermética y se procedió a pesarlo en una balanza analítica.

La recolección de PM10 se realizó dos veces por mes durante los meses de abril, mayo y junio, 2016. Se escogieron los filtros de fibra de cuarzo ya que son robustos e inertes para sus diferentes usos fisicoquímicos.

Para la determinación de la cantidad de PM10 obtenida en cada muestra se consideraron los parámetros indicados en el manual de operación del muestreador automático de PM10 “TISCH TE-600 Series”: peso inicial y final del filtro muestreado, peso inicial y final del filtro blanco de laboratorio, peso inicial y final del filtro blanco de campo, presión de absorción, caudal de aire absorbido, presión barométrica, temperatura del ambiente y junto con el tiempo de muestreo se determinó la concentración de PM10 en el filtro, el cual fue expresado en microgramos de PM10 por metro cúbico estándar de aire ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$).

2.6. Captación y purificación de bacterias

Una vez obtenida la muestra de PM10 en los filtros de fibra de cuarzo, la mitad de la lámina de fibra de cuarzo fue suspendida en 50 mL de solución madre que contiene agua peptonada y Tween 80 al 0.05% p/v, la cual se mantuvo en agitación durante 30 a 60 minutos. Se realizó el mismo procedimiento con los filtros muestreados de todas las estaciones (Figura 2).

Posteriormente se colocó 1,5 mL de solución madre de cada estación en seis medios de cultivo: TSA, Agar MacConkey, Agar King B., EMB, Agar Sangre y Agar BCYE

durante 18–48 h a 20–37 °C, condiciones que son adecuados para el crecimiento de las bacterias de interés.

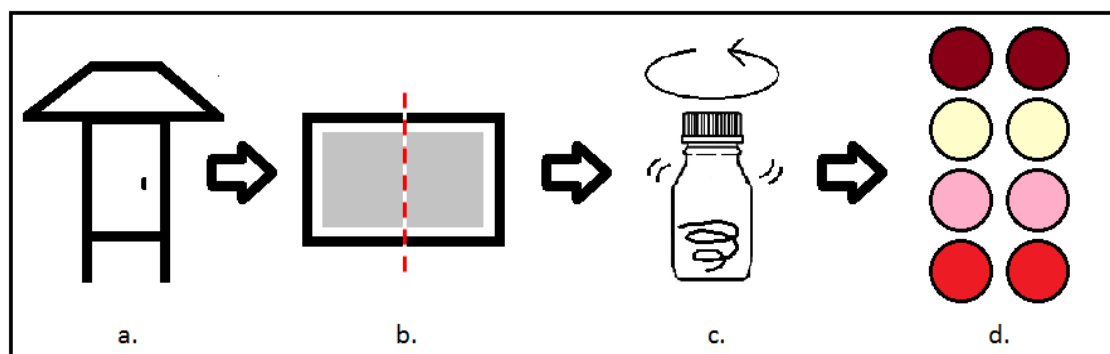


Figura 2: Esquematación de Muestreo (a), Obtención de Filtro muestreado (b), Resuspensión de PM10 (c), y Siembra en medios de cultivo (d), de las diferentes estaciones.

Una vez que hubo crecimiento bacteriano, se procedió a aislar las colonias bacterianas siguiendo los criterios de morfología y tipo de crecimiento en placa por el método de estría. Se realizaron de dos a tres aislamientos de cada bacteria (Figura 3a) basándose en su dificultad de purificación, se las guardó en medio TSA y finalmente se las rotuló con un código en donde constaba: la estación de muestreo (Jipijapa “JJ”, Belisario “BE”, Tababela “TB”, Los Chillos “LC”) seguido del número de muestreo en números romanos (I – VI), seguido del medio de cultivo en el que creció (EMB “1 o 2”, King B. “3 o 4”, Mac Conkey “5 o 6”, Agar Sangre “7 u 8”), seguido de un “punto” junto al número de colonia aislada en el medio (.1, .2, .3, .4,n) y finalmente de ser necesario un segundo aislamiento, una letra minúscula (a, b, c, ...z); se puede ver el ejemplo en la Figura 3b. Finalmente su análisis en pruebas bioquímicas para su identificación.

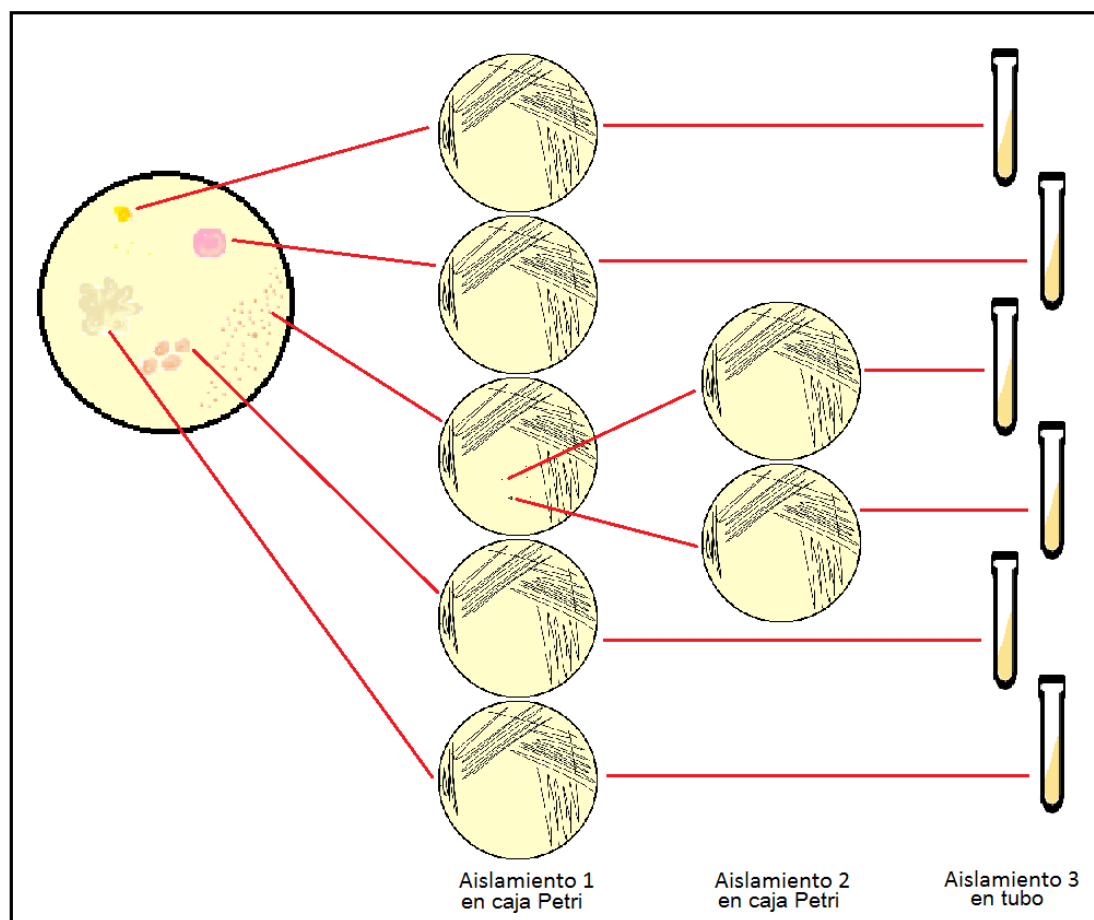


Figura 3a: Forma de aislamiento bacteriano a partir de caja Petri inicial.

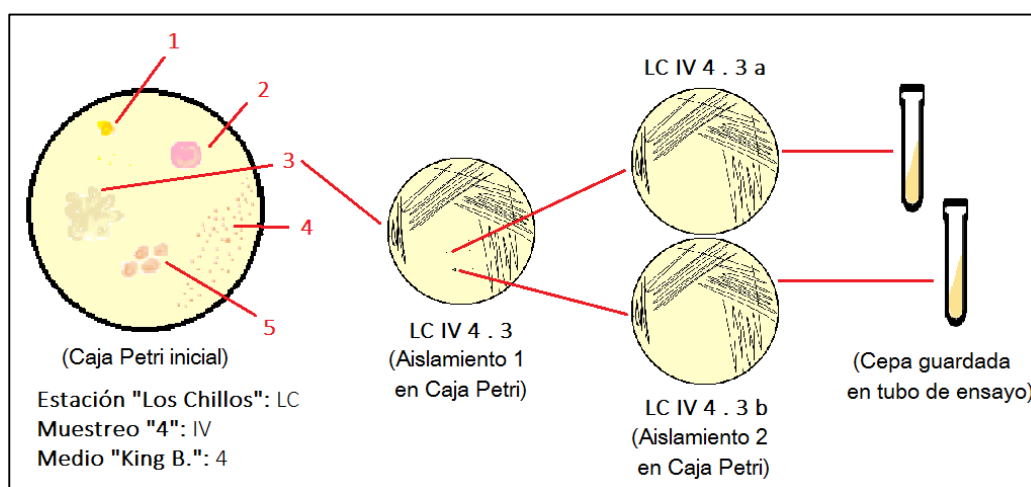


Figura 3b: Ejemplo de cómo se obtiene el código de la cepa. La cepa corresponde a la estación de Los Chillos (LC), muestreo 4 (LC IV), el segundo medio de cultivo King B.

(LC IV 4), tercera colonia del primer aislamiento (LC IV 4.3), primera y segunda colonia obtenida del segundo aislamiento (LC IV 4.3a y LC IV 4.3b respectivamente).
Benavides, 2016.

2.7. Identificación de bacterias

Una vez purificados los cultivos bacterianos, se procedió a determinar mediante la tinción diferencial si fueron Gram positivos o Gram negativos. Las bacterias a identificar fueron: *Acinetobacter baumannii*, *Corynebacterium sp*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*. Mediante una serie de pasos, se inició la identificación de género y/o especie basada en el diagrama de la Figura 4, donde las pruebas bioquímicas Catalasa y Oxidasa, junto con la tinción Gram mantuvieron la clave de clasificación y selección de pruebas bioquímicas a realizarse en cada caso.

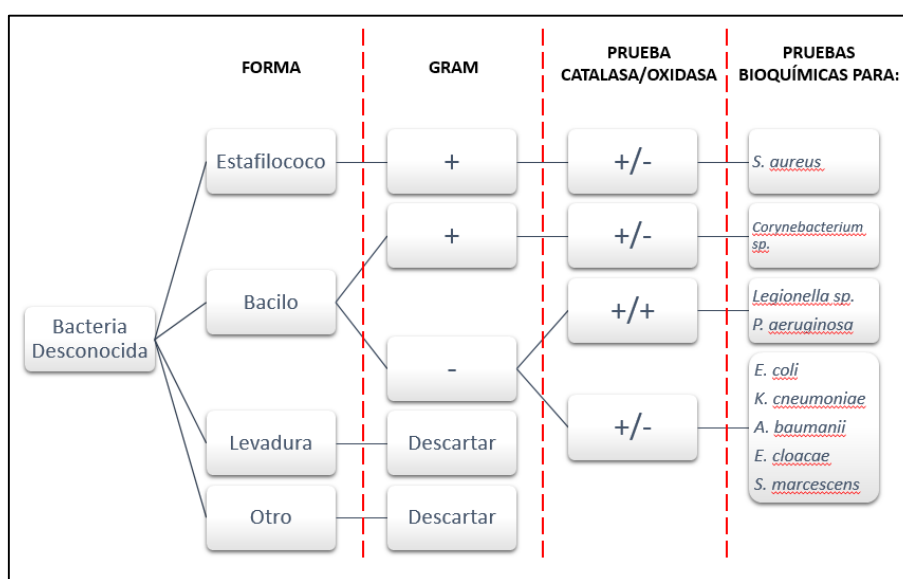


Figura 4: Estructura organizacional para la identificación de las bacterias de interés a partir de una bacteria desconocida. (Bacterias de interés: *Acinetobacter baumannii*, *Corynebacterium sp*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*)

Una vez identificada la forma, tinción Gram y las pruebas Catalasa-Oxidasa, se procedió a realizar las diferentes pruebas bioquímicas basándose en la anterior clasificación. Las pruebas bioquímicas a realizarse, junto con su respectivo resultado se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1:

Identificación bacteriana mediante pruebas bioquímicas. Fuentes: Pérez, et al., 2007; Public Health England, 2014; Patiño, et al., 2005).

BACTERIA	PRUEBAS BIOQUÍMICAS																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
<i>S. aureus</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+		
<i>Corynebacterium spp.</i>	-		-	+	-	-					-		-	+					+
<i>Legionella sp.</i>				+	-	-							-						+
<i>P. aeruginosa</i>				+	+	+						+		+					
<i>E. coli</i>		+			+				+		-								
<i>K. pneumoniae</i>	-	-	-		+		-	+											
<i>A. baumannii</i>		-	-	-	-				+					-					+
<i>E. cloacae</i>	+	-	+		+		-	+		-	+		-						
<i>S. marcescens</i>	+	-	+	-	-		+	-	-	+	+		-	+	+	+			

PRUEBAS BIOQUÍMICAS:	
1. Producción de H ₂ S	11. Utilización de Citrato de sodio como fuente de carbono
2. Producción de Indol	12. Producción de fluoresceína
3. Motilidad	13. Actividad Ureásica
4. Fermentación de glucosa	14. Producción de Nitritos
5. Fermentación Lactosa/Sacarosa	15. Creccimiento rojo en BHI a Temperatura ambiente
6. Producción de Gas	16. Actividad Dnasa
7. Prueba Rojo Metilo (MR)	17. Coagulasa
8. Prueba Voges Proskauer (VP)	18. Crecimiento en medio BCYE (Legionella)
9. Brillo metálico en medio EMB	19. Hemólisis
10. Descarboxilación de Lisina	

Solo en el caso de que las cepas *A. baumannii*, *Corynebacterium sp* y *Legionella sp*, cumplieran con las pruebas bioquímicas mostradas en la Tabla 1, se procedería a realizar un análisis RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphism), el cual al ser una herramienta de biología molecular independiente de cultivo, se utiliza para determinar o confirmar la fuente de una muestra de ADN y que junto a pruebas bioquímicas previamente realizadas confirma la identificación de dichas bacterias.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

3.1 Cuantificación de Material Particulado PM10

Durante tres meses, se realizaron seis muestreos, dos por cada mes en las cuatro estaciones del DMQ tal y como se resume en la Tabla 2, además se incluye también las condiciones ambientales de temperatura, presión barométrica, fecha y hora. Se procuró muestrear en cada estación a la misma hora para tener una mayor exactitud en los datos. Los datos de presión y temperatura de las estaciones Jipijapa y Belisario son las mismas, ya que la estación meteorológica, ubicada en Jipijapa, cubre también la estación Belisario; los datos de presión y temperatura de Tababela son otorgados por la estación meteorológica ubicada en Tumbaco; y los datos de presión y temperatura de Los Chillos son otorgados por la estación meteorológica ubicada en la misma estación.

Tabla 2:

Fecha, hora de muestreo y datos meteorológicos de cada muestreo.

ESTACIÓN	MES 2016	DÍA	HORA	PRESIÓN (mbar)	TEMPERATURA (°C)
JIPIJAPA	ABRIL	22	8:30	726,710	18,385
		29	8:30	726,253	17,100
	MAYO	11	8:30	727,780	11,560
		25	8:30	729,195	16,340
	JUNIO	9	8:30	728,055	15,460
		22	8:30	726,330	13,930
BELISARIO	ABRIL	22	10:00	726,710	18,385
		29	14:30	726,253	17,100
	MAYO	11	10:00	727,780	11,560
		25	10:00	729,195	16,340
	JUNIO	9	10:00	728,055	15,460
		22	10:00	726,330	13,930
TABABELA	ABRIL	22	12:00	770,470	25,070
		29	10:30	772,380	19,820
	MAYO	11	12:00	772,380	19,490
		25	12:00	772,380	24,210
	JUNIO	9	12:00	772,380	22,500
		22	12:00	771,900	21,300
LOS CHILLOS	ABRIL	22	14:00	757,190	23,990
		29	12:30	758,100	22,980
	MAYO	11	14:00	757,940	22,100
		25	14:00	758,830	21,030
	JUNIO	9	14:00	758,840	22,110
		22	14:00	757,860	21,820

Para el cálculo de la concentración de PM10 se deben tener tres datos: “blanco de laboratorio”, de “blanco de campo” y “muestreado”. En donde el “blanco de laboratorio”

es la media aritmética de dos veces su mismo peso. El “blanco de campo” es la media aritmética de dos veces su mismo peso, considerando que el filtro se somete al mismo trato que los filtros “muestreados”. El “muestreado” como su nombre lo indica, es el peso después del muestreo. Se obtuvo un total de 24 filtros (Anexo 1), cada uno de ellos pesado después del muestreo.

El cálculo de la concentración de material particulado PM10 se realizó según las especificaciones del manual de operaciones del muestreador semi automático de PM10 marca “TISCH TE-600 Series”. En el Anexo 2 se muestran todos los datos y variables tomadas en cuenta para el cálculo de la concentración de PM10.

En la Tabla 3 se resume el peso inicial y final de los filtros en gramos, desviación estándar, diferencia de peso y la concentración de PM10 expresado en microgramos por metro cúbico de aire muestreado de cada uno de los filtros. En la estación Jipijapa se registra la mayor cantidad de PM10 y en Belisario se registra la menor cantidad de PM10 con 210,852 y 3,423 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ respectivamente.

Tabla 3:

Peso y concentración de PM10 de filtros muestreados.

M	Estación	Filtro	Po (g)	So	Pf (g)	Sf	Pf-Po	C ($\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)
I	Jipijapa	1	4,39480	1,03608	4,39970	0,00007	0,00490	50,07266
	Belisario	2	4,39300	1,01139	4,39850	0,00306	0,00550	58,78450
	Tababela	3	4,41040	0,98864	4,41520	0,00697	0,00480	47,18867
	Los Chillos	4	4,41030	0,91088	4,41156	0,00821	0,00126	3,64426
II	Jipijapa	5	4,39510	1,13695	4,41070	0,00000	0,01560	210,85202
	Belisario	8	4,41110	1,06257	4,41533	0,02538	0,00423	42,16727
	Tababela	6	4,43530	1,10579	4,43970	0,01562	0,00440	43,78264
	Los Chillos	7	4,41270	1,07646	4,41720	0,01406	0,00450	45,57609
III	Jipijapa	9	4,40270	0,00005	4,40500	0,00000	0,00230	33,76612
	Belisario	10	4,38746	0,01235	4,38972	0,01415	0,00226	33,04833
	Tababela	11	4,37867	0,01850	4,37980	0,02036	0,00113	15,73094
	Los Chillos	12	4,37395	0,02004	4,37511	0,02042	0,00116	16,29136
IV	Jipijapa	13	4,37537	0,00015	4,37630	0,00000	0,00093	15,71211
	Belisario	14	4,36823	0,00926	4,36955	0,00904	0,00132	21,41586
	Tababela	15	4,36420	0,01017	4,36519	0,00876	0,00099	16,06822
	Los Chillos	16	4,36620	0,01048	4,36886	0,01006	0,00266	40,79080
V	Jipijapa	17	4,38660	0,00000	4,38760	0,00000	0,00100	13,69843
	Belisario	18	4,38211	0,00472	4,38468	0,00432	0,00257	36,89331
	Tababela	19	4,37597	0,01069	4,37774	0,01255	0,00177	24,37013
	Los Chillos	20	4,38040	0,00000	4,37851	0,01109	-0,00189	-
VI	Jipijapa	21	4,36380	0,00000	4,36529	0,01219	0,00149	15,33403
	Belisario	22	4,36312	0,00340	4,36541	0,01135	0,00229	3,42348
	Tababela	23	4,35765	0,00914	4,36321	0,01224	0,00556	43,87754
	Los chillos	24	4,36124	0,01038	4,36426	0,01196	0,00302	7,29430

Con la finalidad de observar la variación de PM10 durante los meses de muestreo, se procedió a comparar los datos de PM10 de la Secretaría de Ambiente DMQ con los datos obtenidos del muestreo (Figura 5), donde el pico de máxima cantidad de PM10 es en Jipijapa en el mes de abril. Se debe tomar en consideración que el tiempo de muestreo de la Secretaría de Ambiente fue de veinticuatro horas, mientras que los datos de Muestreo fueron de una hora según la metodología aplicada.

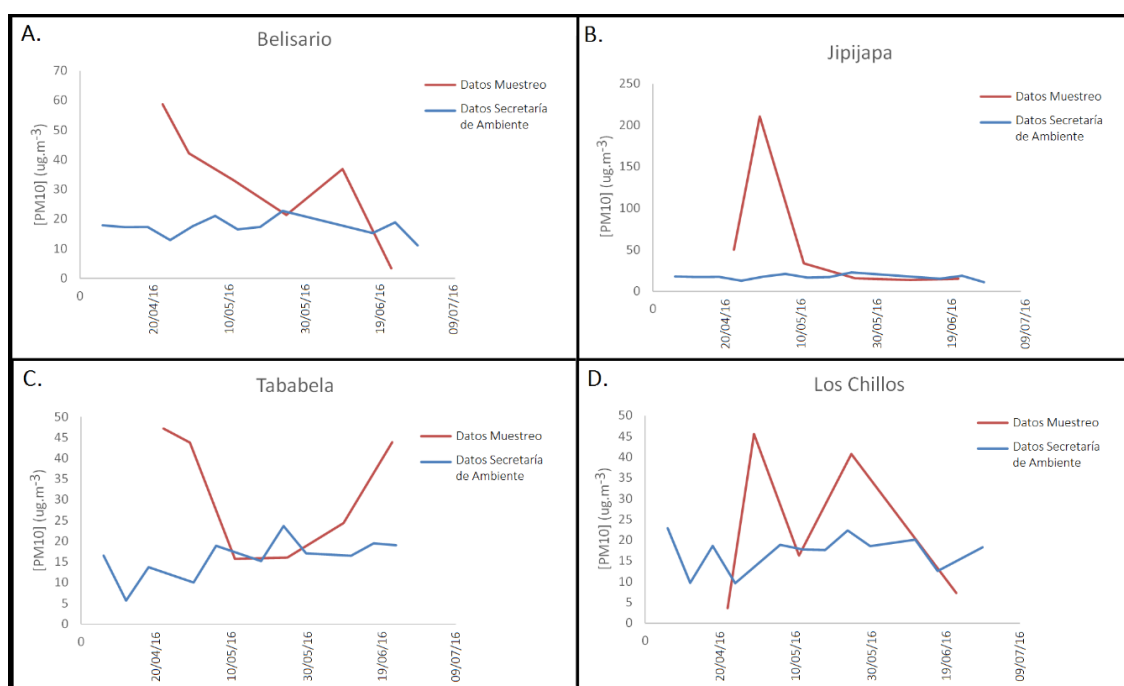


Figura 5: Variación de la concentración de PM10 en datos de la Secretaría de Ambiente (azul) y de los datos de Muestreo (rojo) respecto a los tres meses de muestreo (abril, mayo, junio) en las estaciones Belisario (A), Jipijapa (B), Tababela (C), Los Chillos (D).

3.2 Cultivos obtenidos, clasificación

Pasadas 48 horas de la siembra del filtro muestreado cuyas partículas de PM10 fueron resuspendidas en solución madre, se procedió a observar las colonias encontradas en cada uno de los medios sembrados: EMB, King B., Mac Conkey, Sangre y BCYE. En la Figura 6 se puede observar 12 colonias en agar BCYE, de las cuales se aislaron 4

colonias morfológicamente diferentes, las mismas que fueron sometidas a pruebas bioquímicas, siguiendo el procedimiento de la Figura 3.



Figura 6: Colonias obtenidas en agar BCYE para *Legionella sp* después de dos semanas de incubación a 37°C a partir de la solución con PM10 suspendido.

Las cepas puras obtenidas del aislamiento se sometieron a tinción diferencial Gram para observar su morfología, tipo de tinción y así clasificarlas según los criterios de la Figura 4. En las siguientes figuras vistas al microscopio se observa la tinción Gram y la morfología de algunas cepas.

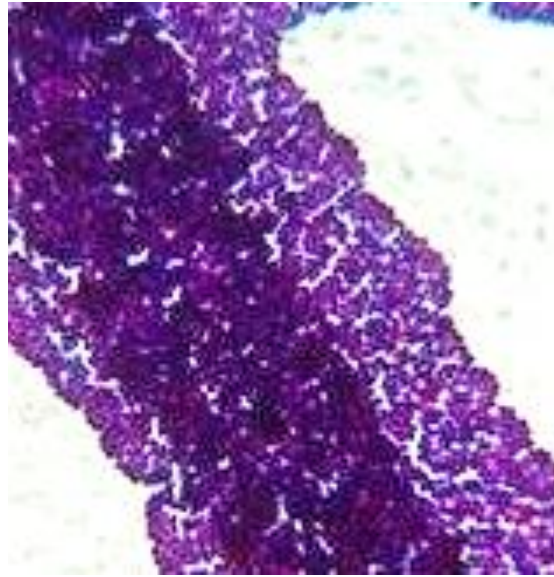


Figura 7: Tinción Gram de la cepa “LC VI 2.2b”. Estafilococos Gram positivos (*S. aureus*) 100X.

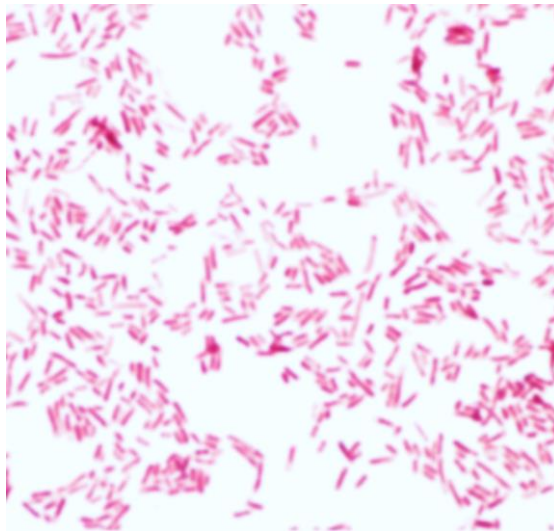


Figura 8: Tinción Gram de la cepa “BE V 4.7”. Bacilos Gram negativos (*E. coli*) 100X.

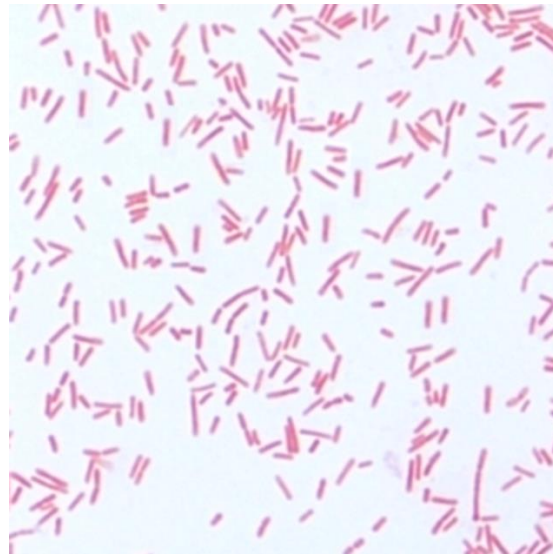


Figura 9: Tinción Gram de la cepa “LC II 8.1”. Bacilos Gram negativos (*P. aeruginosa*) 100X.

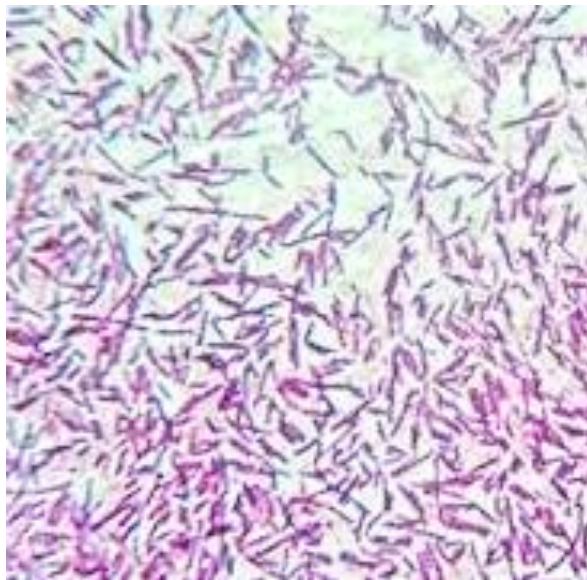


Figura 10: Tinción Gram de la cepa “TB III 4.1”. Bacilos Gram positivos (bacteria desconocida) 100X.

3.3 Pruebas Bioquímicas

Durante toda la investigación, se obtuvo un total de 349 cepas, de las cuales 59 fueron identificadas, 30 fueron descartadas y 261 fueron desconocidas. En el Anexo 3 se muestra una tabla con todas las cepas identificadas, descartadas y desconocidas que se obtuvieron en toda la investigación, junto con el resultado de las pruebas bioquímicas sometidas a todas las cepas; mientras que en el Anexo 4 se muestran las imágenes de las pruebas bioquímicas positivas y negativas para algunas de las cepas.

La Tabla 4 muestra las cepas identificadas en cada una de las estaciones junto con el número de cepas encontradas en cada estación. Al no contar con suficiente medio de cultivo BCYE necesario para identificar *Legionella sp* se procedió a sembrar solo en un medio de cultivo para cada estación durante el Muestreo VI, se realizó el aislamiento de las mismas en medio BCYE y una vez aisladas, se procedió a realizar las pruebas bioquímicas pertinentes, en el Anexo 4 también se muestra el aislamiento en el medio BCYE junto con las pruebas bioquímicas necesarias para *Legionella sp*.

Tabla 4:

Cepas identificadas en cada muestreo.

CEPAS	MUESTREO					
	I	II	III	IV	V	VI
<i>S. aureus</i>	X	X		X	X	
<i>Corynebacterium sp</i>						
<i>Legionella</i>						
<i>P. aeruginosa</i>	X	X	X	X	X	X
<i>E. coli</i>		X			X	
<i>K. pneumoniae</i>	X					
<i>A. baumannii</i> *				X		
<i>E. cloacae</i>					X	X
<i>S. marcescens</i>						
Total cepas	54	41	34	89	56	75

*Se sometió a más pruebas para su identificación.

Las cepas *Corynebacterium sp* y *Legionella spp* al no cumplir con las pruebas bioquímicas necesarias para realizar el análisis RFLP, se las dio por ausentes en los filtros muestreados. Para la identificación molecular de *A. baumannii* fue necesario corroborar las pruebas bioquímicas en el Software Avanzado de Identificación Bacteriana “ABIS online” versión 12 (Stoica, 2016).

Los resultados del software de identificación bacteriana ABIS para la identificación de *A. baumannii* (Figura 11 y Figura 12) mostraron que la cepa puede tratarse de *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. rudis* y *S. maltophilia* con un porcentaje de similitud de 79, 70, 70 y 69% respectivamente; mientras que *A. baumannii* no se encontró en la lista de posibles bacterias identificadas.

Strain name / code (optional)

NON-FERMENTERS

Back Refresh Target Tests Continue

	Positive	Negative	Unknown		Positive	Negative	Unknown
Motility	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Esculin hydrolysis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Hemolysis	<input checked="" type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Gelatin hydrolysis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Fluorescent pigment	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Starch hydrolysis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Non-fluorescent diffusible pigment	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Urea hydrolysis	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Non-fluorescent non-diffusible pigment	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Oxidase reaction	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Poli-beta-hydroxybutyrate accumulation	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Utilization of:			
Growth at 4 °C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	L-Arabinose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Growth at 41 °C	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Citrate	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Growth on MacConkey agar	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Fructose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Arginine dihydrolase (ADH)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Glucose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Alkaline phosphatase (PAL)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	meso-Inositol	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
H ₂ S production	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	2-Ketogluconate	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Indole production	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Mannose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Nitrates reduction	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Mannitol	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lecithinase	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Sorbitol	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Lysine decarboxylase (LDC)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Sucrose (Saccharose)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
Ornithine decarboxylase (ODC)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Trehalose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
ONPG (beta-galactosidase)	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	Xylose	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

Normal mode

Figura 11: Pruebas bioquímicas realizadas para la identificación de *A. baumannii* en el software de identificación ABIS.

Fuente: (Stoica, 2016)

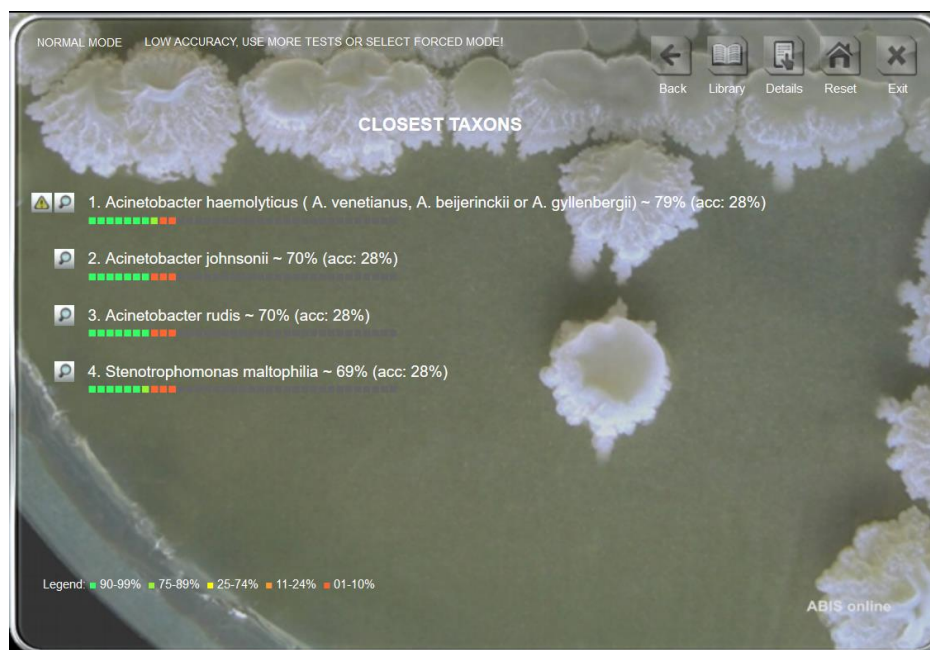


Figura 12: Resultados de las pruebas bioquímicas para identificación de *A. baumannii* en el software de identificación ABIS.

Fuente: (Stoica, 2016)

3.4 Relación partícula-bacteria

La prueba de correlación del coeficiente no paramétrico de Spearman fue utilizado para determinar la relación entre la concentración de PM10 y los microorganismos asociados a este. Se utilizó el método no paramétrico debido a que los datos no se distribuían normalmente, es decir, que dichos valores afectan el coeficiente de correlación de Pearson. En la Tabla 5 y Figura 13 se muestra el número de cepas junto con la concentración de PM10 existentes en cada estación durante los meses de muestreo. Adicionalmente en la Figura 14 se observa un gráfico promedial de las variables: número de cepas, concentración de PM10 muestreado y concentración de PM10 de la Secretaría; donde la mayor cantidad de cepas se observó en la estación Tababela, mientras que en Jipijapa se encontró la mayor concentración de PM10 de los datos muestreados, mas en los datos de la secretaría, muestran constancia.

Tabla 5:

Número de cepas encontradas respecto a la concentración de PM10 calculado.

ESTACIÓN	MES	No. CEPAS	[PM10] MUESTREADO
jipijapa	abril	19	130,46234
	mayo	24	24,739115
	junio	32	14,51623
Belisario	abril	17	50,475885
	mayo	22	27,232095
	junio	33	20,158395
Tababela	abril	31	45,485655
	mayo	50	15,89958
	junio	39	34,123835
Los Chillos	abril	28	24,610175
	mayo	26	28,54108
	junio	21	18,000965

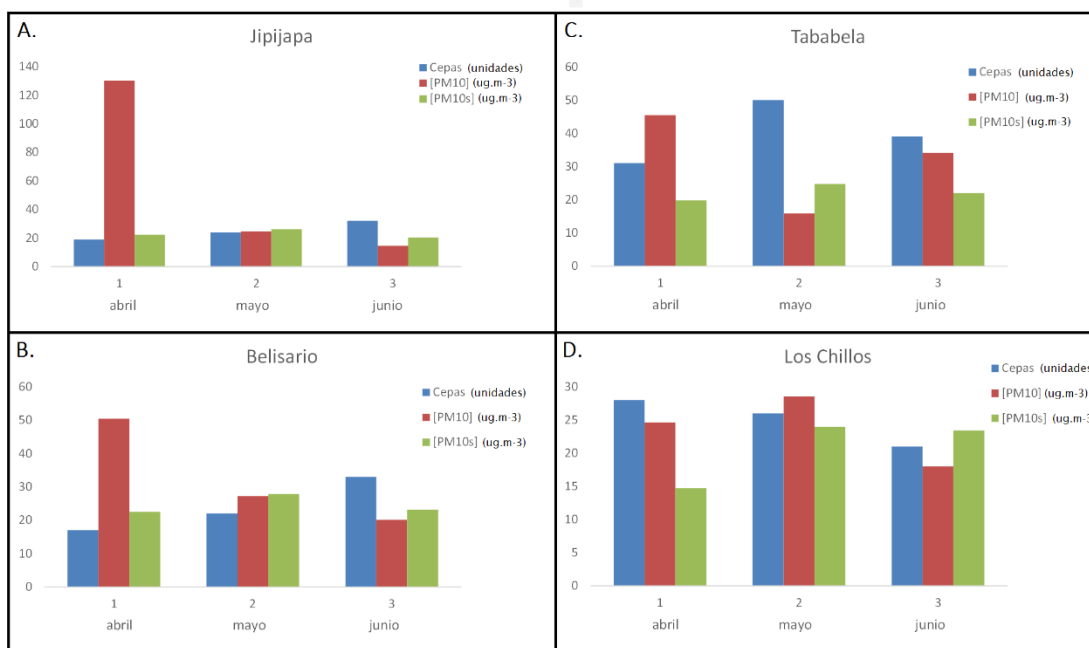


Figura 13: Comparación mensual entre el número de cepas, la concentración de PM10 muestreado y la concentración de PM10 de datos de la Secretaría de Ambiente durante los tres meses de muestreo en las diferentes estaciones: Jipijapa (A), Belisario (B), Tababela (C) y Los Chillos (D).

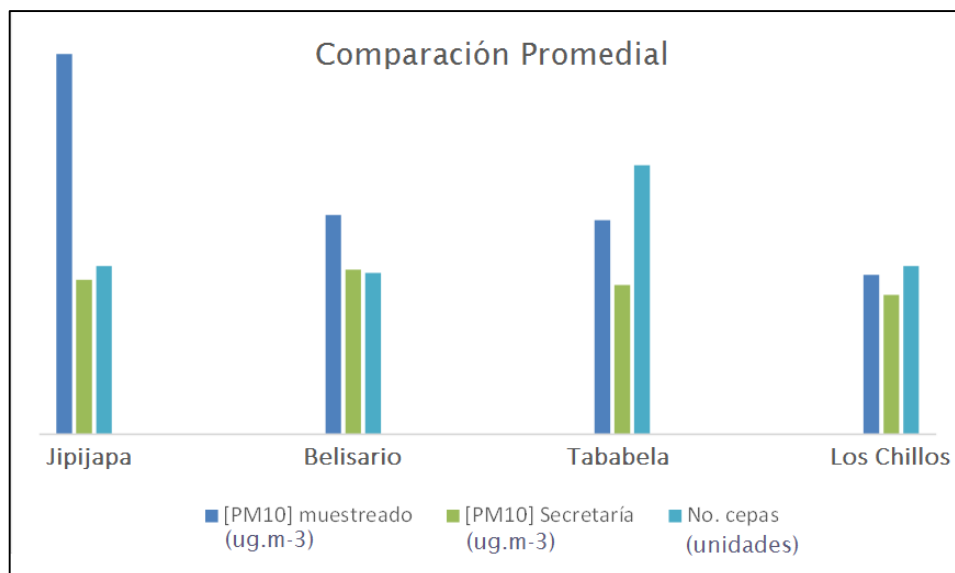


Figura 14: Comparación promedial entre estaciones, las variables consideradas son: número de cepas, concentración de PM10 muestreado y concentración de PM10 de la Secretaría.

En la Tabla 6 se muestran los coeficientes de correlación de Spearman entre el número de cepas con los datos de: PM10 Muestreado, PM10 Secretaría, Presión Barométrica y Temperatura. Un pequeño valor del coeficiente no revela que no exista correlación ya que las variables pueden presentar una relación no lineal (Pita & Pértega, 2001). La correlación entre número de cepas y ambas concentraciones de PM10 tanto Muestreado como de Secretaría parecen ser independientes, en este caso, el valor del coeficiente es de $-0,4895$ y $-0,1818$ respectivamente, es decir que existe una correlación negativa y una correlación negativa no significativa entre el número de cepas y las concentraciones de PM10. Mientras que la relación entre el número de cepas y los parámetros meteorológicos son correlaciones positivas.

Tabla 6:

Coeficientes de Correlación Spearman entre el número de Cepas asociadas a PM10, parámetros meteorológicos y contaminantes.

VARIABLES	VARIABLE
	No. CEPAS
[PM10] MUESTREADO	-0,4895105
[PM10] SECRETARÍA	-0,1818182
DIÓXIDO DE AZUFRE	-0,3269231
DIÓXIDO DE NITRÓGENO	-0,7458333
HUMEDAD RELATIVA	-0,0209790
MONÓXIDO DE CARBONO	-0,5458333
MONÓXIDO DE NITRÓGENO	-0,6291667
ÓXIDOS DE NITRÓGENO TOTALES	-0,6791667
OZONO	0,7080420
RADIACION SOLAR	0,6101399
VELOCIDAD DEL VIENTO	0,2185315
PRESIÓN BAROMÉTRICA	0,7220280
TEMPERATURA	0,6451049

CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN

Quito es una ciudad que se encuentra próxima a volcanes en actividad eruptiva y explotación de minas. Debido a ubicarse a una altura aproximadamente de 2.800 m.s.n.m. la quema de combustibles fósiles con alta cantidad de azufre se ve limitada, obligando a los automotores a realizar mayores esfuerzos para vencer dichas irregularidades, provocando altas emisiones de azufre y material particulado. Según Díaz, 2006, citando a la Organización Mundial de la Salud, 2003, la erosión del suelo, la explotación de las canteras y la quema de combustibles fósiles son las mayores fuentes de material particulado. De todas las estaciones, según los datos otorgados por la Secretaría de Ambiente (Anexo 5), los niveles de PM10 varían constantemente, es decir, que ninguna de las estaciones presenta siempre mayor concentración sobre las otras estaciones.

Cabe mencionar una pequeña descripción de las estaciones de muestreo. La estación Jipijapa y Belisario se encuentran dentro del perímetro urbano de la ciudad de Quito, ambas estaciones se encuentran en lugares donde existe gran afluencia de carros en horas pico. La estación Jipijapa está dentro de la Secretaría de Ambiente, mientras que la estación Belisario se halla dentro de un instituto de educación secundaria, a 50 metros se localiza una clínica privada. Las estaciones Tababela y Los Chillos se sitúan fuera del perímetro urbano de la ciudad de Quito. La estación Tababela se encuentra dentro de una Unidad educativa, junto a terrenos que se dedican a la agricultura y ganadería a pequeña escala, la afluencia de carros es mínima; mientras que la estación Los Chillos, está dentro de una institución privada de telecomunicaciones, donde no hay gran afluencia de carros, rodeada de viviendas, locales comerciales pequeños y terrenos baldíos.

Durante los meses de muestreo abril, mayo y junio de 2016 se observó que la concentración de PM10 muestreado se comportó similar que la concentración de PM10 de Secretaría de Ambiente, es decir, que existió un factor común que permite captar mayor cantidad de partículas de PM10, según Díaz, 2016, las mayores concentraciones de PM10 coincidieron con la velocidad promedio de vientos durante la época monitoreada, en la

Figura 15 y en la Tabla 13, existió un ligero aumento de la concentración de PM10 de Secretaría de Ambiente en el mes de mayo con respecto a los meses de abril y junio de 2016.

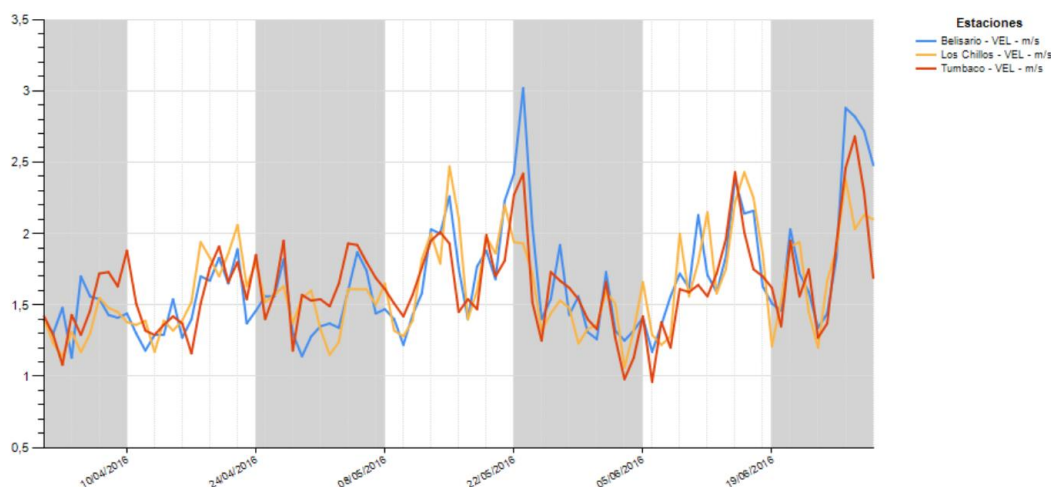


Figura 15: Gráfica comparativa de la velocidad del viento en las cuatro estaciones durante tres meses de muestreo. Los datos de la estación Belisario y Jipijapa son las mismas. Fuente: (Secretaría de Ambiente, 2016)

La OMS establece que cada país tiene la potestad de considerar normas de calidad de aire acorde a su realidad social, técnica y económica, para lo cual, el gobierno ecuatoriano debe realizar un estudio cuidadoso de las condiciones locales propias, antes de adoptar las guías directamente como normas con validez jurídica (Secretaría de Ambiente, 2016). La Norma de Calidad del Aire Ambiente (NECA) es la referencia nacional obligatoria para evaluar el estado de la contaminación atmosférica, publicada como parte constituyente del Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria (TULAS), Libro IV De la calidad Ambiental, Anexo 4, en el cual se incluyen los límites máximos permitidos por el contaminante. En este caso el Material Particulado, cuyos promedio aritmético de monitoreo continuo durante 24 h, no debe exceder de $100 \mu\text{g.m}^3$. Dentro de este rango encontramos los niveles deseables (entre $0 - 50 \mu\text{g.m}^3$) y aceptables (entre $51 - 100 \mu\text{g.m}^3$) (Secretaría de Ambiente, 2016). Los datos obtenidos de PM10

muestreado indican que dos de las estaciones rebasaron el límite deseables, la primera en Belisario en el Muestreo I y el segundo en Jipijapa en el Muestreo II con valores de 58,785 y 210,852 respectivamente; este último valor puede deberse a un error en la manipulación del filtro o un error en la lectura de datos; mientras que con el otro valor, como ya se mencionó anteriormente pudo ser por la gran afluencia de carros en esa zona. Además en el Muestreo V en la estación Los Chillos, el peso del filtro muestreado disminuyó, probablemente porque a que al momento de muestrear, una corriente de aire desprendió un pedazo del filtro, el cual no pudo ser recuperado.

Ecuador, al ser un país en vías de desarrollo, el proceso de transformación industrial avanza a pasos agigantados, pero a diferencia de los países ya industrializados, las necesidades básicas no están al alcance de las manos, y es común encontrar personas con infecciones respiratorias (IR) causadas por bacterias patógenas relacionadas con el material particulado (Hernández, 2009).

EL material particulado ha sido extensamente estudiado a nivel físicoquímico (Cao, 2014, citando a He K., 2001), sin embargo es poco lo que se conoce a nivel microbiológico. Hasta ahora, no se ha demostrado concluyentemente que ningún componente del PM sea inofensivo (Cao, 2014, citando a Fowler D., 2013). Estudios de Clifton, 2010, y Eames, 2009, muestran que los bioaerosoles contienen patógenos responsables de causar infecciones respiratorias. La mayoría de estudios realizados a bacterias del aire se llevan a cabo en ambientes hospitalarios.

Se identificaron cinco de las diez bacterias de interés causantes de infecciones respiratorias a lo largo de la investigación por medio de pruebas bioquímicas: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*. Aparentemente *A. baumannii* pudo identificarse bioquímicamente, pero al someterla a pruebas extras junto a la herramienta de identificación bacteriana online ABIS versión 12 (Figura 12), se pudo descartar su posterior identificación por técnicas moleculares.

Staphylococcus aureus puede causar diferentes formas de infecciones, sean lesiones localizadas en piel, incluso infecciones profundas como osteomielitis y

endocarditis. A nivel hospitalario, *S. aureus* se ha convertido en la mayor causa de infecciones nosocomiales (Foster, 1996), lo cual representa un serio problema de salud debido a que su distribución se extiende a nivel mundial. Estos brotes están surgiendo de manera alarmante en la mayoría de los países industrializados (Zandejas, Avalos, & Soto, 2014). *Staphylococcus aureus* se encuentran ampliamente distribuido en el aire, leche, agua potable, aguas residuales. En la Figura 16 se observa el porcentaje de cepas identificadas durante toda la investigación, en donde *S. aureus* es la cepa que más se logró identificar con un 7,56% del total, siguiendo *P. aeruginosa* con un 6,72% del total, luego *E. cloacae* con 0,84% y finalmente *E. coli* y *K. pneumoniae* con un 0,56%. A partir de la década de los 80 el número de infecciones a causa de *S. aureus* ha incrementado tanto en comunidades como en hospitales, lo cual puede ser explicado por el aumento de la supervivencia de la población general (Zandejas, 2014, citando a Tibavizco, 2007) y como se corrobora en el Anexo 3, las cepas *S. aureus* y *P. aeruginosa* fueron identificadas en todas las estaciones.

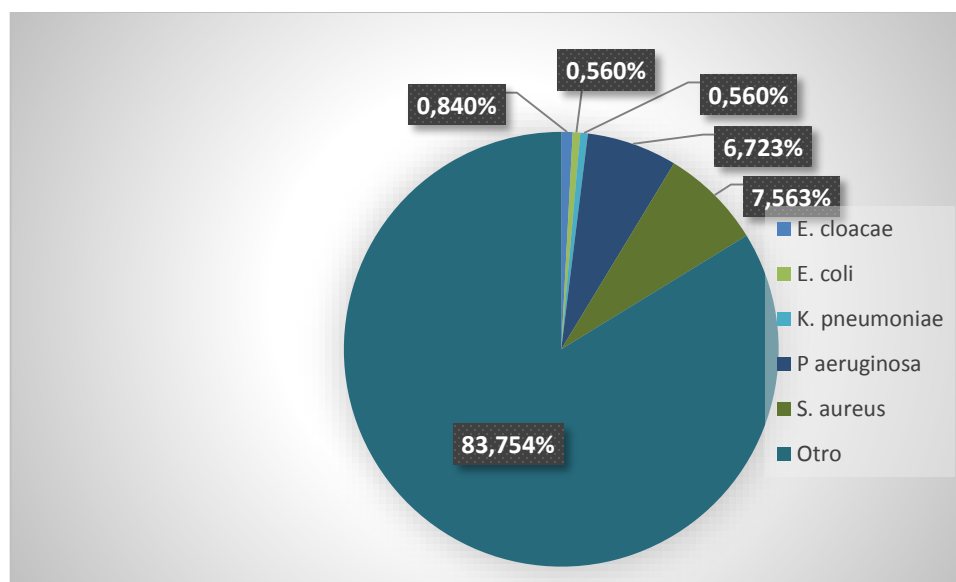


Figura 16: Porcentaje de cepas identificadas durante toda la investigación, de un total de 357 cepas. Donde solo un 16,246% pudieron ser identificadas.

El género *Klebsiella* es un huésped habitual saprófito del hombre y animales, se encuentra difundido ampliamente en la naturaleza, principalmente en ambientes acuáticos, suelo, aguas superficiales, efluentes de industrias y vegetación (Bagley, 1985). Dentro del DMQ se pudo identificar a dos cepas, correspondientes a las estaciones de Jipijapa y Belisario, las cuales se encuentran dentro del perímetro urbano. *Klebsiella pneumoniae* es ocasionalmente asociada con bacteriemia, a menudo con una alta tasa de mortalidad, y es considerada como una de las mayores causas de infecciones nosocomiales (Percival, y otros, 2004).

Según la investigación de Blanco, 2005, sobre la caracterización de PM como factor de riesgo sobre la salud en una localidad de Colombia, se identificó *E. coli* en el material particulado de una zona residencial. Similarmente en la presente investigación la aparición de *E. coli* corrobora los resultados obtenidos por Blanco, a diferencia de que las estaciones Los Chillos y Tababela se ubican fuera del perímetro urbano, y que ambas están próximas a terrenos ya sean baldíos o sembríos, con abonos orgánicos y agua de riego. *E. coli* comúnmente no tiene relevancia en el campo de enfermedades respiratorias, pero sí lo tiene en el campo de enfermedades gastrointestinales. En el caso de infecciones, la neumonía cavitada es poco frecuente, en este tipo de infecciones se produce por la necrosis del parénquima pulmonar secundaria tanto a la invasión bacteriana como a la respuesta inmunológica del huésped frente a las estructuras de la pared del microorganismo (Bastidas, Ibarra, & Giraldo, 2012).

E. cloacae se encuentra distribuida en la naturaleza, ya sea en el agua, aguas residuales, suelo y alimentos. Se origina como un comensal en la microflora intestinal de animales y humanos, también es patógeno en plantas e insectos. La diversidad de hábitats se ve reflejada en la variedad genética (Davin, 2015, citando a Mezzatesta et al., 2012). Jipijapa fue la única estación en las que se encontró *E. cloacae*. Respecto a su patogenicidad, es oportunista y que puede causar una variedad de condiciones, incluyendo infecciones en ojos y piel, neumonía e infecciones en el tracto urinario (Rogers, S/A). No es un patógeno primario de humanos, pero ha sido considerado una importante causa de infecciones nosocomiales (Keller, Pedroso, Ritchmann, & Silva, 1998).

A. baumannii, *Corynebacterium sp*, *Legionella spp* y *S. marcescens* no pudieron ser identificadas con pruebas bioquímicas, por lo tanto, tampoco fue posible realizar una posterior identificación por técnicas moleculares.

Los organismos pertenecientes al género *Acinetobacter* se encuentran a menudo difundidos por naturaleza y pueden ser recolectados de casi todas las muestras de agua superficial y de suelo (Howard, O'Donoghue, Geeney, & Sleator, 2012). Sin embargo, su forma patógena tiene como objetivo a los tejidos húmedos como membranas mucosas o áreas de la piel expuestas, normalmente esto sucede en la unidad de cuidados intensivos en hospitales a nivel mundial. Según el sistema nacional de vigilancia epidemiológica del Ministerio de salud MINSAL, 2003, *A. baumannii* es el principal patógeno causante de neumonía asociada a ventiladores mecánicos en hospitales.

Algunas cepas de *Corynebacterium* habitan en el ambiente, sin embargo, preferentemente se las encuentra en las mucosas de mamíferos y flora normal de la piel. No suelen distribuirse uniformemente y en ocasiones ocupan nichos específicos (Fernández, 2010).

Distintas especies de *Legionella* son encontradas en fuentes ambientales, principalmente fuentes acuáticas; asociadas sobre todo a la existencia de lodos y materia orgánica, donde *Legionella* crece intracelularmente en protozoos dentro de biofilms que están dispersos en la naturaleza y también en dispositivos médicos (University of Louisville, 1999). La detección de *Legionella* es complicada debido a sus requerimientos de L-cisteína y pirofosfato férrico necesarios para su crecimiento, su habilidad para entrar en un estado viable no cultivable, su asociación con protozoos y la aparición en biofilms (University of Louisville, 1999). En el caso de la identificación de *Legionella spp* al no disponer de suficiente cantidad de agar BCYE, se procedió a solo realizar un aislamiento a partir del Muestreo VI, del cual se llevaron a cabo las pruebas bioquímicas. No se detectó *Legionella* en ninguno de los medios de cultivo.

Especies de *Serratia* son fácilmente encontradas en el ambiente, específicamente *S. marcescens* es comúnmente encontrada en agua, suelo, animales, insectos y plantas; y

cuya patogenicidad se presenta en humanos, animales e insectos (Mahlen, 2011). El agua parece ser el ambiente natural predilecto de *S. marcescens*, como lo menciona Mahlen, 2011, citando a Grimont, 2006, en una investigación en donde *S. marcescens* es la especie predominante en el agua de un río. En ninguno de los muestreos fue posible identificar *S. marcescens*, esto puede deberse a que los muestreadores semiautomáticos se encuentran a más de 3 m sobre el nivel del suelo, dificultando la entrada de partículas de suelo o bioaerosoles; esto en las estaciones de Tababela y Los Chillos; mientras que en las estaciones de Belisario y Jipijapa al encontrarse en medio de la ciudad, es poco probable que partículas de suelo o bioaerosoles ingresen al muestreador.

La correlación de Spearman entre número de cepas y ambas concentraciones de PM10 (tanto Muestreado como de Secretaría) parecen ser independientes, en este caso, el valor del coeficiente es de $-0,4895$ y $-0,1818$ respectivamente, es decir que existe una correlación negativa y una correlación negativa no significativa entre el número de cepas y las concentraciones de PM10. Las concentraciones de PM10 asociadas a bacterias fueron altamente variables, lo cual puede atribuirse a la acción antropogénica y a cambios atmosféricos (Alghamdi, 2014, citando a Kellogg, 2004).

Mientras que la correlación entre el número de cepas y los parámetros meteorológicos resultan variables, donde la humedad relativa es el parámetro que menos correlación presenta. Sin embargo la humedad relativa puede causar agrupamiento de partículas biológicas y no biológicas, causando un aumento en la capacidad de supervivencia y a la rápida sedimentación y eliminación de partículas del aire. Di Giorgio et al., (1996), encontraron que la humedad relativa no tuvo efecto significativo sobre las partículas viables. El ozono es conocido como un oxidante fototóxico, y se encontró una correlación positiva con las bacterias asociadas a PM10, lo cual puede atribuirse al bajo tiempo de retención entre el O₃ y el PM10 para matar microorganismos o reaccionar con componentes del PM10, es decir que una considerable cantidad de PM10 pudo haber sido transferida al lugar de muestreo desde fuentes lejanas, por lo que los microorganismos pudieron tener tiempo para llegar a ser afectados.

La velocidad del viento está ligeramente correlacionada con bacterias asociadas a PM₁₀, y actúa como un factor de dilución. La velocidad de decaimiento de bacterias en el aire aumenta a medida que incrementa el tiempo de vida del aerosol, ya que la velocidad del viento ayuda al transporte de los bioaerosoles de la fuente al sitio de muestreo y al mismo tiempo disminuye la concentración neta de los aerosoles debido a la difusión. Durante el tiempo de vida del aerosol, éste sufre transformaciones fisicoquímicas en la atmósfera, tales como coagulación, reordenación estructural, evaporación, adsorción y absorción, que pueden aumentar o disminuir la supervivencia de los microorganismos (Alghamdi, y otros, 2014).

Según Alghamdi et al., (2014), citando a Hood, 1973 y a Handley-Webster, 1995, los efectos de contaminantes y factores meteorológicos asociados a PM son complejos, ya que las fracciones biológicas (microorganismos) asociadas a PM son atribuidas a diversos factores como: la composición del PM, parámetros meteorológicos, tipo contaminación, transformaciones fisicoquímicas, características geográficas, entre otras; de las cuales, la composición del PM puede afectar la viabilidad de las bacterias.

CAPÍTULO 5: CONSLUSIONES

- La estación Jipijapa fue la única estación en donde uno de los valores de la concentración de PM10 sobrepasó los límites de la norma de Calidad del Aire, con $210,85 \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$.
- La correlación entre la concentración de bacterias en el PM10 no fue significativa.
- *S. aureus* fue la bacteria mayormente identificada en todas las estaciones, en un segundo lugar *P. aeruginosa*; principalmente en Tababela.
- *A. baumannii*, *Corynebacterium sp*, *Legionella spp* y *S. marcescens* no se encontraron en el PM10.
- La concentración de microorganismos asociados a PM10 tuvo gran variabilidad debido a que se encuentran influenciados por condiciones meteorológicas, contaminantes del aire, y otras.
- El O3 tiene una alta correlación positiva con el PM, mientras que la velocidad del viento ayuda a la supervivencia de los microorganismos aerotransportados así como también a la dilución de la concentración de PM10.
- Esta investigación ayuda a entender qué factores intervienen en la supervivencia, movilidad y viabilidad de no solo las bacterias, sino los microorganismos en general.
- La información sobre la fuente de las bacterias transmitidas por el aire puede ser de importancia al momento de realizar una planificación urbana para reducir la contaminación por PM10 y la propagación de infecciones por bacterias en el aire.

CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES

Es necesario ampliar la información sobre el Material Particulado, incentivando a la investigación de este tipo de contaminación, ya que no existe mayor información disponible sobre bioaerosoles.

Se debe aumentar el número de estaciones en el DMQ, ya que las cuatro estaciones no abarcan a todo el DMQ, sino una parte de él.

Se deben realizar estudios sobre la dinámica de los bioaerosoles, ya que así se podría predecir posibles infecciones respiratorias.

Es necesario complementar la información con herramientas de biología molecular para identificar no solo bacterias, sino también virus y hongos.

Investigar sobre el movimiento de los bioaerosoles dentro y entre Instituciones de salud.

CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA

Airnow. (2015). Particle Pollution (PM). Obtenido de:
<http://www.airnow.gov/index.cfm?action=aqibasics.particle> .

Alghamdi, A., Shamy, M., Redal, M., Khoder, M., Awad, A., & Elserougy, S. (19 de Febrero de 2014). Microorganisms associated particulate matter: A preliminary study. Elsevier, 109-116. Recuperado el 6 de Noviembre de 2016, de Microorganisms associated particulate matter: A preliminary study.

Bagley. (1985). Habitat association of Klebsiella species. Medline, 52. Recuperado el 8 de Noviembre de 2016, de:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=3882590>

Barrios, S., Peña, F., & Osses, S. (Diciembre de 2004). Scielo. Recuperado el 8 de Octubre de 2016, de efectos de la contaminación atmosférica por material particulado en las enfermedades respiratorias agudas en menores de 5 años:
http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071795532004000200004&script=sci_arttext&tln_g=pt

Bastidas, A., Ibarra, E., & Giraldo, L. (2012). Neumonía cavitada causada por Escherichia coli. Retrieved diciembre 9, 2015, from <http://www.asoneumocito.org/wp-content/uploads/2012/07/9.-neumonia.pdf>

Blanco, L. (2006). Revista Épsilon: Caracterización microbiológica del material particulado como factor de riesgo sobre la salud en la localidad de Puente Aranda. Obtenido de:
<https://www.ucbca.edu.bo/universidad/Publicaciones/revistas/actanova/documentos/v3n2/v3.n2.blanco.pdf>

Blossom, D., Srinivasan, & Arjun. (2008). Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus Complex: An Emerging Nosocomial Pathogen With Few Treatment Options. Recuperado el 9 de diciembre de 2015, de:

http://journals.lww.com/infectdis/fulltext/2008/01000/drug_resistant_acinetobacter.1.aspx

Cantón, R., Fernández, A., Gómez, E., & Meseguer, R. (2011). Infección bronquial crónica: el problema de *Pseudomonas aeruginosa*. Retrieved 2015

Cao, C., Jiang, W., Wang, B., Fang, J., Lang, J., Jiang, J., & Zhu, T. (4 de Febrero de 2014). Environmental Science and Technology. Recuperado el 06 de Noviembre de 2016, de Inhalable Microorganisms in Beijing's PM2.5 and PM10 Pollutants during a Severe Smog Event: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3963435/>

Davin, A., & Jean, P. (Mayo de 2015). *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment. *Frontiers in Microbiology*, 6. Recuperado el 8 de Noviembre de 2016, de:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4435039/>

Di Giorgio, C., Krempff, A., Guiraud, H., Binder, P., Tiret, C., & Dumenil, G. (1996). Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the City of Marseilles. *Atmos Environ*, 155-160. Recuperado el 9 de Noviembre de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S135223109500143M>

Díaz, V., & Páez, C. (2006). CORPAIRE. Obtenido de: <http://ucbconocimiento.ucbca.edu.bo/index.php/ran/article/download/121/116>

Diomedi, A. (Diciembre de 2005). Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado. *Scielo*, 298-320. Recuperado el 6 de Noviembre de 2016, de:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182005000600003

Diomedi, A. (2005). SCIELO. Recuperado el 13 de Octubre de 2016, de Infecciones por *Acinetobacter baumannii* pan-resistente. Consideraciones epidemiológicas y de manejo antimicrobiano actualizado:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182005000600003.

DMQ, M. d. (Diciembre de 2011). EMASEO. Recuperado el 5 de Octubre de 2016, de Plan de desarrollo 2012-2022:

http://www.emaseo.gob.ec/documentos/lotaip_2012/s/plan_de_desarrollo_2012_2014.pdf

Dossi, T., Escalona, M., Serrano, C., Silva, A., Juliet, C., Fernández, A., Fernández, J. (2002). *Serratia marscens*: Descripción de un prote de infección intrahospitalaria. Retrieved diciembre 8, 2015, obtenido de:

http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182002000400007

EPA. (5 de Octubre de 2016). Criteria Air Pollutants. Recuperado el 9 de Octubre de 2016, de <https://www.epa.gov/criteria-air-pollutants>.

Fernández, M. (2010). Universidad Complutense de Madrid. Recuperado el 6 de Noviembre de 2016, de Identificación y poder patógeno de microorganismos del género *Corynebacterium* aislados de muestras clínicas: <http://eprints.ucm.es/11115/1/T31895.pdf>

Foster, T. (1996). Chapter 12 *Staphylococcus*. En S. Baron, *Medical Microbiology*. Texas. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/>

Gomes, M. (2013). Géneros. Recuperado el 2016 de Noviembre de 2016, de <http://www.ufrgs.br/labacvet/files/G%C3%AAnero%20Coryne-Rhodo-Trueperella%204-2013-1.pdf>

Guzmán, L., Militza, Albarado, I., Luzmila, Betancourt, J., & Medina, B. (2005). Bacterias patógenas en infecciones del tracto respiratorio. Servicio Autónomo Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Cumaná, Estado Sucre. Retrieved noviembre 8, 2015, from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222005000100003

Hernández, C. (2009). Infección Respiratoria Aguda en relacion con la contaminación atmosférica y otros factores ambientales. *Archivos de Medicina*, 69-79.

Howard, a., O'Donoghue, M., Geeney, A., & Sleator, R. (Junio de 2012). *Acinetobacter baumannii*. *Landes Bioscience Journal*, 243-250. Recuperado el 6 de Noviembre de 2016, de:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3442836/pdf/viru-3-243.pdf>

Keller, R., Pedroso, M., Ritchmann, R., & Silva, R. (1998). Occurrence of Virulence-Associated Properties in *Enterobacter cloacae*. Retrieved diciembre 9, 2015, from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC113501/pdf/ii000645.pdf>

Mahlen, S. (octubre de 2011). *Serratia* Infections: from Military Experiments to Current Practice. *Clinical Microbiology Reviews*, 755-791. Recuperado el 6 de Noviembre de 2016, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3194826/>

Marcos, M. (S/A). *Acinetobacter baumannii*. Retrieved diciembre 13, 2015, from <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisionestematicas/bacteriologia/acinetobacter.pdf>

Maseos, M., & Mateos, S. (S/A). Infecciones Respiratorias. Recuperado el 8 de diciembre de 2015, de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Infeccionesrespiratorias.pdf>

MedlinePlus. (Agosto de 2015). Contaminación del aire. Obtenido de <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/airpollution.html>

Percival, S., Chalmers, R., Embrey, M., Hunter, P., Sellwood, J., & Wyn-Jones, P. (2004). *Microbiology of waterborne diseases*. Elsevier. Recuperado el 8 de Noviembre de 2016, de:

https://books.google.com.ec/books?id=C6yMpnvePccC&pg=PA126&lpg=PA126&dq=k+pneumoniae+habitat&source=bl&ots=_HqHcnbM2p&sig=8kShNOQaatj-13zDJZZpbXQlp2g&hl=es-419&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=k%20pneumoniae%20habitat&f=false

Pita, S., & Pértega, S. (30 de Marzo de 2001). *Fisterra*. Recuperado el 31 de Octubre de 2016, de Relación entre variables cuantitativas:

https://www.fisterra.com/mbe/investiga/var_cuantitativas/var_cuantitativas.asp

Pública, M. d. (Octubre de 2012). Programa Ampliado de Inmunizaciones. Recuperado el 20 de Septiembre de 2016, de:

<https://aplicaciones.mspgob.ec/salud/archivosdigitales/documentosDirecciones/dnn/archivos/LINEAMIENTOS%20CAMPANA%20C3%91A%20DE%20VACUNACION%20CONTRA%20INFLUENZA%20ESTACIONAL.pdf>

Quito. (2014). Quito. Obtenido de <http://www.quito.com.ec/laciudad/informacion-turistica/geografia-ubicacion>

Rogers, K. (S/A). Encyclopedia Britannica. Retrieved diciembre 9, 2015, from <http://www.britannica.com/science/Enterobacter>

SADAR. (2009). Neumonía por Legionella. Recuperado el 9 de noviembre de 2015, de Sociedad Aragonesa de Aparato Respiratorio:

<http://www.sadar.org/pacientes/neumonia-por-legionella>

Somogyi, T., Alfaro, W., Herrera, M., & Herrera, J. (1998). Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. Retrieved noviembre 8, 2015, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1017-85461998000100001&script=sci_arttext

Stoica, C. (2016). ABIS online. Recuperado el 28 de 10 de 2016, de: http://www.tgw1916.net/bacteria_logare_desktop.html

sVEA. (2012). Protocolo de vigilancia y alerta de difteria. Retrieved diciembre 10, 2015, obtenido de:

http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csalud/galerias/documentos/p_4_p_1_vigilancia_de_la_salud/protocolos_actuacion_2012/pr_difteria12.pdf

TULAS. (2003). Norma de calidad del aire ambiente. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/6078/47/LIBRO%20VI%20Anexo%204%20Calidad%20de%20aire.pdf>

UC. (S/A). Material particulado. Obtenido de: http://www7.uc.cl/sw_educ/contam/cont/cont12.htm

UNESCO. (S/A). City of Quito. Obtenido de <http://whc.unesco.org/en/list/2>

University of Louisville. (Agosto de 1999). Pubmed. Recuperado el 6 de Noviembre de 2016, de Legionella: from environmental habitats to disease pathology, detection and control.: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11207747>

Zandejas, G., Avalos, H., & Soto, M. (2014). Microbiología general de *S. aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Biomed, 129-143. Recuperado el 7 de Noviembre de 2016, de <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb142534.pdf>

